

**DAS VERHALTEN DER
AZURGRANULIERTEN LYMPHOZYTEN
VON MEERSCHWEINCHEN BEI
TOXISCHER DERMATITIS,
BEI ALLERGISCHEM DNCB-KONTAKT-
EKZEM UND BEI PERORALER
DESENSIBILISIERUNG DER TIERE
MIT DNCB**

Richard Leibiger

1977

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco

**DAS VERHALTEN DER AZURGRANULIERTEN LYMPHOZYTEN
VON MEERSCHWEINCHEN BEI TOXISCHER DERMATITIS,
BEI ALLERGISCHEM DNCB-KONTAKTEKZEM UND BEI
PERORALER DESENSIBILISIERUNG DER TIERE MIT DNCB**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Richard Leibiger

aus

München

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter:	Professor Dr. S. Marghescu
Mitberichterstatter:	Professor Dr. O. Braun-Falco
Dekan:	Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 8. November 1977



Meiner Großmutter

Anna Beyerlein

† 16. September 1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555611_0062

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung	1
II. Grundzüge der Immunbiologie	3
1. Definitionen und Einteilung	3
2. Das Antigen	5
3. Die Antikörper	5
4. Die allergischen Reaktionsmechanismen	7
4.1. Anaphylaktische Reaktionen	7
4.2. Zytotoxische Reaktionen	7
4.3. Reaktionen vom Arthus-Typ	7
4.4. Spättyp-Reaktionen	8
III. Mediatorsubstanzen der Soforttyp-Reaktionen	9
1. Geschichte der Überträgerstoffe	9
2. Histamin	11
2.1. Vorkommen und Stoffwechsel	11
2.2. Histaminfreisetzung	12
2.3. Histaminwirkungen bei allergischen Soforttyp-Reaktionen	13
2.4. Histamin bei allergischen Spättyp-Reaktionen	14
2.5. Histamin bei toxischen Hauterscheinungen	15
3. Serotonin	15
4. Slow reacting substances (SRS)	17
5. Azetylcholin	18
6. Heparin	18
7. Anaphylatoxin	18
8. Aktivierung von Enzymen	19
8.1. Trypsin	20
8.2. Plasmakinine	20
8.3. Lysosomale Enzyme	21
9. Aktivierung des Komplementsystems	21
10. Weitere Mediatoren	22
10.1. Prostaglandine	22
10.2. Mediatoren der Arthus-Reaktion	23
10.3. Permeability increasing factor (PIF)	23
11. Zusammenfassung	24
IV. Mediatorsubstanzen der Spättyp-Reaktionen	25
1. Einführung	25
2. Transfer-Faktor	26
3. Makrophagen-Migrationshemmfaktor (MIF)	27
4. Chemotaktische Faktoren	29
5. Makrophagen-aggregierender Faktor (MAF)	30
6. Makrophagen-aktivierender Faktor	30
7. Zytotoxische Faktoren	32
8. Zellproliferation-beeinflussende Faktoren	33
9. Haut-reaktiver Faktor (SRF)	33
10. Mitogene oder blastogene Faktoren	35
11. Leukotaktischer Faktor	35
12. Interferon-ähnlicher Faktor	36
13. Lymph node permeability factor (LNPF)	37
14. Weitere Mediatoren	38
15. Zusammenfassung	39

V. Eigene Untersuchungen	40
1. Material und Methoden	40
1.1. Wahl des Versuchstieres	40
1.2. Haltung und Kennzeichnung der Tiere	40
1.3. Entfernung der Behaarung	40
1.4. Toxische Reize	41
1.4.1. Kohlensäureschnee	41
1.4.2. UV-Bestrahlung	41
1.4.3. Trichloressigsäure	41
1.5. Allergen	42
1.6. Blutentnahme	42
1.7. Anfertigung der Blutaussstriche	43
1.8. Mikroskopische Untersuchung	43
1.9. Die einzelnen Versuchsreihen	45
1.10. Auswertung	48
2. Ergebnisse	50
2.1. Gruppe I	50
2.1.1. Hautreaktionen	50
2.1.2. Azurgranulierte Lymphozyten	51
2.2. Gruppe II	52
2.2.1. Hautreaktionen	52
2.2.2. Azurgranulierte Lymphozyten	55
2.3. Gruppe III	57
2.3.1. Hautreaktionen	57
2.3.2. Azurgranulierte Lymphozyten	60
2.4. Gruppe IV	62
2.4.1. Hautreaktionen	62
2.4.2. Azurgranulierte Lymphozyten	65
2.5. Gruppe V	66
2.5.1. Hautreaktionen	66
2.5.2. Azurgranulierte Lymphozyten	67
2.6. Gruppe VI	71
2.6.1. Hautreaktionen	71
2.6.2. Azurgranulierte Lymphozyten	72
2.7. Gruppe VII	74
2.7.1. Hautreaktionen	74
2.7.2. Azurgranulierte Lymphozyten	74
2.8. Gruppe VIII	76
2.8.1. Hautreaktionen	76
2.8.2. Azurgranulierte Lymphozyten	77
3. Statistische Auswertung	78
3.1. Methode	78
3.2. Ergebnisse	80
VI. Diskussion	82
1. Lysosomen bei allergischen Hauterscheinungen	82
2. Ergebnisse der eigenen Untersuchungen	83
3. Mögliche Theorien	87
VII. Zusammenfassung	91
VIII. Literatur	93

I. Einleitung

Wenn man die Erforschung der immunologischen und allergischen Phänomene betrachtet, stellt man fest, daß die Spättyp-Reaktionen immer etwas stiefmütterlich behandelt wurden. So sind die Untersuchungen ihrer Mediatorsubstanzen erst in den letzten zehn Jahren etwas mehr in den Vordergrund gerückt. Ebenso steht es mit den klinisch anwendbaren Testmethoden. Für das Kontaktekzem, das einen großen Bereich des dermatologischen Alltags ausmacht, ist immer noch die Epikutantestung mit anschließender subjektiver Begutachtung durch den Arzt die Methode der Wahl (3, 22). Es werden zwar die relativ objektiven Möglichkeiten des Lymphozyten-Transformations-Tests und des Makrophagen-Migrationshemmtests (11, 52) - neben einer mikrobiologischen Methode mit virusinfizierten Lymphozyten (7) - angeboten, doch sind alle diese Tests für die klinische Auswertung zu kompliziert und zu langwierig (136, 168). Deshalb wurde eine einfache hämatomorphologische Möglichkeit ins Auge gefaßt, mit der durch bloßes lichtmikroskopisches Auszählen von azurgranulierten Lymphozyten eine Aussage darüber zu erzielen sei, ob ein Individuum mit einem bestimmten Allergen in Berührung gekommen ist (32, 78). Danach sollen diese Lymphozyten, deren Granula man wohl mit den Lysosomen gleichsetzen kann, bei allergischem Kontaktekzem im Vergleich zum nicht sensibilisierten Organismus prozentual sehr stark ansteigen.

Versuche, die in dieser Richtung unternommen wurden, bestätigten diese Vermutung vollends. Doch ist bei all den Experimenten nie untersucht worden, ob der Anstieg der azurgranulierten Lymphozyten nicht auch bei rein toxischen Reaktionen zu verzeichnen war. Zwar wurden mehrmals toxische Konzentrationen des Allergens 2,4-Dinitrochlorbenzol (DNCB) verwendet, um die Unterschiede von toxischer und allergischer Dermatitis zu überprüfen (78, 100); die Versuche lassen jedoch die Chance offen, daß das Allergen auch in toxischer Konzentration seine allergische Komponente zum Tragen bringt (103).

Daher war es primär das Ziel dieser Arbeit, den oben beschriebenen hämatomorphologischen Test einmal bei rein toxischen Substanzen anzuwenden, um festzustellen, ob die azurgranulierten Lymphozyten dabei konstant bleiben; ein Anstieg würde die allergenspezifische Komponente der Granula in Abrede stellen. Es sollten deshalb Meer-

schweinchen einer Behandlung mit 3 verschiedenen toxischen Reizen unterzogen werden, nämlich mit Kohlensäureschnee, UV-Strahlen und Trichloressigsäure. Gleichzeitig sollten ihre Lymphozyten in einem nach MAY-GRÜNWALD-GIEMSA gefärbten Blutaussstrich auf etwaige Veränderungen in der Granulierung untersucht werden.

Da die azurophilen Granula bzw. die Lysosomen in der letzten Zeit erhöhte Aufmerksamkeit auf sich gezogen haben - sofern man ihre Beziehungen zur unspezifischen Phase der allergischen Reaktionen betrachtet -, sollen eingangs die Mediatorssubstanzen sowohl der Soforttyp- als auch der Spättyp-Allergie und ihre möglichen Beziehungen zu den Lysosomen etwas näher in Augenschein genommen werden.

Ferner soll untersucht werden, ob eine neue Sensibilisierungsmethode bei der DNCB-Epikutantestung, die einige Vorteile gegenüber den alten Pinselungen aufweist (72), genau wie die herkömmlichen Methoden zu einem Anstieg der Lymphozytengranula während der Behandlungszeit führt.

Schließlich soll noch festgestellt werden, wie sich diese Zellorganellen bei peroraler Desensibilisierung mit DNCB verhalten (89).

Bei allen Versuchen wird das gleiche einfache Verfahren der lichtmikroskopischen Zellbestimmung angewandt, wie es in jeder ärztlichen Praxis durchgeführt werden kann.

II. Grundzüge der Immunbiologie

1. Definitionen und Einteilung

Die Immunologie wird heute als die Lehre von den spezifischen Reaktionen zur Erhaltung der biologischen Individualität definiert (42). Die Immunbiologie befaßt sich demgemäß mit allen Phänomenen einer veränderten Reaktionslage des Organismus, die durch Antigenzufuhr ausgelöst und durch die Entwicklung und Existenz spezifischer Antikörper charakterisiert ist. Als Immunphänomene bezeichnet man im allgemeinen das Zusammentreffen des auslösenden Antigens mit dem spezifischen Antikörper. Dabei kann bei bestimmten Reaktionsformen das Komplement mitbeteiligt sein.

Je nach Finalität der Antikörper lassen sich abwehrende Immunphänomene, die man unter dem Oberbegriff "Immunität" zusammenfaßt, und krankmachende Immunphänomene unterscheiden, deren Sammelbezeichnung "Allergie" lautet. Schließlich läßt sich noch ein weiteres Immunphänomen beschreiben, wenn man die Herkunft der Allergene mitberücksichtigt. Stammen sie nämlich aus dem eigenen Organismus, ist der Begriff "Autoallergie" zutreffend.

Die Immunität gegen eine Krankheit kann auf unterschiedliche Weise zustande kommen: durch Überstehen einer Krankheit, durch aktive Immunisierung mit Hilfe einer Schutzimpfung und schließlich durch passive Immunisierung durch Zufuhr gebildeter Antikörper (96).

Neben diesen Antikörpern mit immunologischer Schutzfunktion existieren aber auch solche, die keine abwehrende sondern - im Gegenteil - sogar krankmachende Funktion ausüben, eben eine Allergie hervorrufen. Um die Paradoxie noch deutlicher zu machen, richten sich die scheinbar unsinnigen Immunreaktionen obendrein häufig gegen a priori harmlose Substanzen (92, 155).

Je nach Antigen, Antikörper, Ort ihres Zusammentreffens und zeitlichem Intervall zwischen Antigenzufuhr und Auftreten der Krankheiterscheinungen unterscheiden wir zwei Typen von allergischen Erkrankungen: Allergien vom Soforttyp und vom Spättyp. Diese Typen lassen sich auch in ihren klinischen und histologischen Erscheinungsbildern gut voneinander trennen (96, 155). Es soll hier aber nicht verschwiegen werden, daß des öfteren die Frage erörtert wird,

ob die strenge Trennung nur eine didaktisch günstige Situation darstellt, und sich die beiden Reaktionstypen im Organismus in Wirklichkeit überlagern (21, 43, 87, 111).

Eine weitere klinisch und experimentell besonders wertvolle Aufgliederung stellt die von COOMBS und GELL getroffene Einteilung in vier Reaktionstypen dar, die die heutigen Kenntnisse über Art und Wirkung von Antikörpern und Antigenen sowie von Übermittlungssubstanzen und Komplement berücksichtigen. Auch der Mechanismus der Gewebsschädigung ist dabei von entscheidender Bedeutung (51, 98, 157). Diese Einteilung soll im weiteren Verlauf noch kurz erläutert werden.

Unabhängig vom Typ der allergischen Reaktion läßt sich der Ablauf einer allergischen Krankheit in eine Reaktionskette fassen, die sich in drei Phasen gliedert (154, 176):

1. Die spezifische Phase.

Sie wird durch die nach Antigenzufuhr auftretende aktive Antikörperbildung bzw. durch eine passive Antikörperzufuhr eingeleitet. Erneute Antigenzufuhr führt dann zur Auslösung des spezifischen Anteils der pathogenen Immunreaktionen, der Antigen-Antikörper-Reaktion bzw. der Bildung von Immunaggregaten, die sich aus Antigen-Antikörper-Komplexen rekrutieren.

2. Die unspezifische, biochemisch faßbare Phase.

Durch die spezifischen Vorgänge bzw. die spezifischen Reaktionsprodukte der 1. Phase wird die Aktivierung, Bildung oder Freisetzung biologisch wirksamer Stoffe veranlaßt, die jeder für sich oder im Verlauf einer ineinander übergehenden biochemischen Reaktionskette gemeinsam die Symptomatik der 3. Phase auslösen. Diese Substanzen übertragen oder verwandeln somit die Wirkung der spezifischen Reaktion in das funktionell oder morphologisch faßbare Symptom. Sie werden daher als Mediatoren oder Überträgerstoffe bezeichnet.

3. Die morphologisch und/oder funktionell faßbare Phase.

Sie umfaßt das Auftreten von morphologisch oder funktionell faßbaren Veränderungen, die entweder durch die Vorgänge in der 1. Phase, am häufigsten jedoch durch die in der 2. Phase entstandenen oder aktivierten Stoffe herbeigeführt werden.

Mit den Mediatoren der 2. Phase soll sich die vorliegende Arbeit noch ausführlicher beschäftigen. Hier sei nur ein Punkt bereits hervorgehoben: 1968 war man noch überwiegend der Anschauung, daß die Spättyp-Reaktionen keine Überträgersubstanzen im Sinne des Histamins und Serotonins der Soforttyp-Reaktionen aufweisen. Diese Auffassung darf heute auch bei vorsichtiger Beurteilung angesichts der Fülle von Faktoren, die mittlerweile isoliert werden konnten, als überholt bezeichnet werden.

2. Das Antigen

Man kann das Antigen als Stoff der belebten oder unbelebten Natur definieren, der in einem Organismus eine Immunantwort auslöst und mit dem Produkt dieser Immunantwort, also dem Antikörper, spezifisch reagiert. Die Antigene werden nach verschiedenen Kriterien eingeteilt wie Effektivität, chemische Natur und Herkunft im Verhältnis zum Empfänger.

Die wichtigsten Eigenschaften der Antigene sind ihre Immunogenität, Spezifität, Pathogenität und Tolerogenität. Die Immunogenität bedeutet die Fähigkeit zur Antikörpersynthese. Unter Spezifität versteht man die Eigenschaft des Antigens, die Antikörpersynthese spezifisch zu prägen und mit dem gebildeten Antikörper spezifisch zu reagieren. Die Pathogenität trifft in erster Linie auf die allergischen und autoallergischen Antigene zu, da diese vor allem pathologische Immunphänomene auslösen. Die Tolerogenität eines Antigens beinhaltet schließlich die Fähigkeit, die gegen seine Spezifität gerichtete Antikörperbildung zeitlich aufzuheben. Diese Immuntoleranz durch Antigenzufuhr ist der Grundpfeiler der Selbsterkennungshypothese von BURNET (96).

3. Die Antikörper

Die Antikörper sind spezifisch geprägte Produkte einer Immunantwort; sie können entsprechend der Einteilung der Allergiephänomene in solche vom Soforttyp und vom Spättyp in humorale und zelluläre Antikörper gegliedert werden.

Die humoralen Antikörper werden auch Immunglobuline genannt. Sie sind Serumproteinbestandteile und werden nach verschiedenen physikalisch-chemischen Eigenschaften, wie Molekulargewicht, Zusammensetzung und Kohlenhydratanteil, und nach immunologischen Kriterien, wie z.B. die Beteiligung bei bestimmten Reaktionstypen, voneinander unterschieden. Die zur Zeit wohl als wesentlich anzusehenden fünf Immunglobulinklassen werden mit Gamma-G, Gamma-A, Gamma-M, Gamma-D und Gamma-E bezeichnet.

Die Träger der zellulären Allergie sind die kleinen Lymphozyten, auch Immunozyten genannt. Sie sind weitgehend für die allergischen Phänomene vom Spättyp verantwortlich zu machen.

Die hier interessierenden Eigenschaften der Antikörper sind ihre Spezifität, Avidität und Wertigkeit. Die Spezifität ist in der Aminosäuresequenz der Polypeptidkette verankert. Die Avidität eines Antikörpers kommt in seiner Bindungsintensität mit dem Antigen zum Ausdruck. Die Wertigkeit oder Valenz schließlich gibt die Zahl der Antigendeterminanten pro Antikörpereinheit an und entscheidet damit, ob es sich um einen kompletten oder inkompletten Antikörper handelt (96).

Die Bildung der humoralen Antikörper ist noch nicht vollständig geklärt. Sie findet im sogenannten immunologisch-kompetenten System statt. Hierzu gehören vor allem die Milz, die Lymphknoten und das Knochenmark. Das Antigen wird im allgemeinen zuerst durch Makrophagen gespeichert und durch Abbau, Verdauung oder Umwandlung in einen "immunogenen Zustand" versetzt. Auf bisher noch ungeklärte Weise wird die Information dann an die plasma-zellulär-lymphozytäre Zellreihe, die sogenannten immunkompetenten Zellen weitergeleitet, die nach Proliferation und Reifung die Antikörper synthetisieren. Daß hierbei auch die T-Lymphozyten eine Rolle spielen, wird zumindest diskutiert (12, 21, 96, 111).

Über die Bildung der "zellständigen" Antikörper der Spättyp-Reaktion ist so gut wie nichts bekannt. Sicher ist, daß sie nicht aus der Zelle freigesetzt werden, und somit die Spättyp-Allergie meist nur mit den Immunozyten übertragen werden kann.

4. Die allergischen Reaktionsmechanismen

4.1. Anaphylaktische Reaktionen

Als auslösendes Agens finden sich bei dieser Art der Allergie verschiedene freie Antigene. Die Antikörper, auf die sie treffen, gehören den Immunglobulinen E, den sogenannten Reaginen, an. Diese haben eine besonders starke Affinität zu den Gewebsmastzellen und den Blutbasophilen; sie kommen daher auch nur in äußerst niedriger Konzentration im Serum vor. Ihre Affinität für Zelloberflächen ist so groß, daß eine für den PRAUSNITZ-KÜSTNER-Test vorbereitete Hautstelle mindestens vier Wochen lang sensibilisiert bleibt.

Reagiert nun das Antigen mit dem auf der Zelloberfläche fixierten zytotropen Antikörper, so werden immunologisch unspezifische Vorgänge durch Freisetzung und Aktivierung von H-Substanzen ausgelöst, die die eigentliche Symptomatik des Reaktionstyps ausmachen. Klinisch äußert sich dies als anaphylaktischer Schock, als Asthma bronchiale, als Heuschnupfen und in der Haut als Urtikaria (92, 98).

4.2. Zytotoxische Reaktionen

Antigene sind bei diesen Reaktionen Bestandteile der Zellmembran selbst oder an die Zellmembran adsorbierte Stoffe. Die Antikörper entstammen der Ig G- oder Ig M-Klasse und verbinden sich mit dem Antigen an der Zellmembran. Durch diesen Komplex wird Komplement gebunden, das in der Folgereaktion aktiviert wird und zur Zytolyse führt. Übermittlungssubstanzen sind hier kaum von Bedeutung. Reagierende Zellen sind hauptsächlich Blutzellen, ein Umstand, der sich klinisch in den Diagnosen "allergisch-hämolytische Anämie", "allergische Agranulozytose" oder "allergisch-thrombopenische Purpura" ausdrückt (98, 157).

4.3. Reaktionen vom Arthus-Typ

Diese Reaktionen treten immer dann auf, wenn lösliches Antigen, z.B. ein Medikamentenbestandteil, im Überschuß mit freiem präzipitierenden Antikörper der Ig G-Klasse in den Gewebsspalten oder Blutgefäßen zusammentrifft, dort als unlöslicher Komplex oder nicht lösbares Aggregat ausfällt und Komplement an sich bindet. Mit der

Komplementaktivierung und der dadurch ausgelösten Chemotaxis tritt die Arthus-Reaktion in ihre immunologisch unspezifische Phase ein; denn was sich von nun an ereignet, ist nichts anderes als eine aseptische akute Entzündung unter Einbeziehung der Gefäßwand. Der Gewebsschaden beruht nämlich nur auf der Freisetzung lysosomaler Enzyme der leukotaktisch angehäuften Granulozyten, keineswegs aber auf der bloßen Anwesenheit der Immunkomplexe. Klinische Erscheinungsbilder sind die Glomerulonephritis vom Typ MASUGI, die Vasculitis allergica und als systemische Maximalvariante die sogenannte Serumkrankheit (92, 98, 120).

4.4. Spättyp-Reaktionen

Die Spättyp-Reaktionen scheinen sich immer dann zu entwickeln, wenn das Antigen in der Gewebssperipherie, also außerhalb des immunologisch-kompetenten Systems, fixiert ist. Den Ablauf der Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ kann man sich deshalb folgendermaßen vorstellen: Initial treffen vereinzelte spezifisch sensibilisierte Lymphozyten auf ihrem "Streifgang durch die Gewebe" zufällig auf das Antigen und reagieren mit ihm. Dadurch werden sie zur Synthese und Sekretion von Lymphokinen veranlaßt, die mit Aktivitäten zur allmählichen Etablierung eines entzündlichen Zellinfiltrates ausgestattet sind. Zugleich hat damit die immunologisch unspezifische Phase begonnen, die im Erfolgsfall mit der Zerstörung und Elimination der antigenen Struktur endet (43, 92).

Aus dermatologischer Sicht lassen sich die Spättyp-Phänomene noch in zwei Untergruppen einteilen (98, 157):

1. Der Ekzem-Typ.

Das Zielorgan der Reaktion ist hier die Epidermis. Es kommt dabei zu Rötung, Papelbildung und dem Auftreten spongiotischer Bläschen durch das intra- und interzelluläre Ödem in der Epidermis. Die klassisch klinische Form ist das allergische Kontaktekzem.

2. Der Tuberkulin-Typ.

Bei dieser Reaktion sind vor allem die Gefäße der Kutis betroffen. Sie äußert sich in Rötung und Papelbildung. Typische klinische Beispiele hierfür sind die Tuberkulinreaktion, die sogenannten "id"-Reaktionen und die Arzneimittlexantheme.

III. Mediatorsubstanzen der Soforttyp-Reaktionen

Die Bedeutung der Überträgerstoffe bei den allergischen Soforttyp-Reaktionen ist relativ gut bekannt. Dennoch finden sich in der Literatur auch heute noch gewaltige Widersprüche hinsichtlich ihrer Wirkung. Allein über das Histamin, dessen große Rolle für intermediäre Stoffwechselvorgänge wohl unbestritten ist, existiert eine unübersehbare Menge an Veröffentlichungen, zumal die Auswirkungen der Substanz auf die einzelnen Spezies verschieden sind (171). Hierzu gibt GIERTZ (30) beispielsweise in einem Artikel insgesamt 993 Literaturstellen an. Es ist deshalb sicher verständlich, daß eine detaillierte Darstellung aller Fakten den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde. Die folgende Übersicht soll sich daher vor allem - neben bereits bekannten - mit den Wirkungen des Histamins und der anderen Mediatoren befassen, die in besonderer Beziehung zum Menschen stehen, und denen Untersuchungen aus jüngster Zeit zugrunde liegen. Gleichzeitig sollen die möglichen Effekte der Soforttyp-Mediatoren bei der Spättyp-Reaktion angesprochen werden, soweit sie als bekannt gelten oder diskutiert werden (155).

1. Geschichte der Überträgerstoffe

Schon kurz nach dem Bekanntwerden des Phänomens der Anaphylaxie im Jahre 1902 begannen die Versuche, zum Teil nur hypothetische Auslöser- oder Überträgerstoffe mit den eigenartigen Phänomenen in ursächlichen Zusammenhang zu bringen. Bis heute ist die Frage nach den Wirkstoffen im allergischen Geschehen noch keineswegs ausdiskutiert, zumal die Reaktionen bei Menschen und verschiedenen Versuchstieren unterschiedlich verlaufen können.

Die ersten Vorstellungen über die Auslösung der Anaphylaxie gingen von einer primär toxischen Komponente im Allergen aus, die allerdings erst durch die "Aphylaxie", die Schutzlosigkeit des Empfängerorganismus, zur Wirkung kommen sollte. Später wurden zum Teil in komplizierten Hypothesen spezifische Toxine angenommen, die aus dem Spender-eiweiß, aus dem Empfängerblut oder aus Körperzellen in zwei oder mehr Stufen entstehen und damit die Latenzzeit erklären sollten. Während

dieser Zeit stellten GAY und SOUTHARD 1907 zum erstenmal Vergleiche zwischen den anaphylaktisch wirkenden Reaktionskörpern und den Hormonen an; den Begriff Hormone hatte STARLING zwei Jahre zuvor für die neu entdeckten "chemical messengers" geprägt. Damit war eigentlich erstmalig das Stichwort von den Überträgerstoffen gefallen.

Nach Anerkennung der Eiweißanaphylaxie wurden durch fermentative Aufspaltung entstehende "split products" oder ein bis heute chemisch noch nicht identifiziertes Anaphylatoxin als Überträgerfaktoren vermutet. Als Schöpfer des Begriffs Anaphylatoxin darf wohl FRIEDBERGER gelten.

Von 1910 an trat die Histamin-Theorie von DALE mehr und mehr in den Vordergrund. Der Name Histamin stammt im übrigen von dem Freiburger Pharmakologen FÜHNER aus dem Jahre 1912.

1923 äußerte Sir Thomas LEWIS Zweifel darüber, ob Histamin wirklich für die vielfältigen allergischen Symptome ausschlaggebend sei, und sprach von diesem Jahr an vor allem von "H-substances".

1947 stellte der rumänische Forscher DANIELOPULO eine neue, die Azetylcholin-Theorie, auf, wobei er die Überzeugung vertrat, daß durch den Kontakt des Allergens mit Körperzellen Azetylcholin frei würde und dieses wiederum die Bildung von Antikörpern induziere, so daß dann bei einer Zweitinjektion ein anaphylaktischer Schock ausgelöst werden könne.

Inzwischen hatte man aber auch erkannt, daß neben der sofortigen Reaktion bei Infusionen von Histamin sich häufig eine Spätreaktion einstellte, die erstmals 1938 von KELLAWAY, TRETHEWIE und Mitarbeitern auf besondere "slow contracting substances" zurückgeführt wurde, die BROCKLEHURST 1960 als "slow reacting substances" (SRS) bezeichnete (171).

1940 war zum erstenmal Serotonin von ERSPARMER beschrieben worden (25), und 1949 isolierte ROCHA E SILVA im Anschluß an Arbeiten über die Wirkung von Schlangengiften ein aus Betaglobulin bestehendes Polypeptid, das eine langsame Muskelkontraktion im Tierversuch hervorrief; er nannte es deshalb "Bradykinin". Damit war die einseitige Histamin-Theorie zum zweitenmal in Frage gestellt, und es begann die moderne Forschung mit der Aufklärung der immer komplizierter erscheinenden Prozesse, die sich im Anschluß an die Antigen-Antikörper-Reaktion bei Anaphylaxie und Allergie im Organismus entwickeln (134).

Ende der 60er Jahre nahm man sich auch endlich der lange vernachlässigten Spätreaktion an und versuchte deren Mediatorsubstanzen zu erforschen (21). So veröffentlichten 1966 BLOOM und BENNETT sowie unabhängig davon DAVID ihre ersten Beobachtungen von löslicher biologischer Aktivität aus spezifisch sensibilisierten Lymphozyten, die später als Migrationshemmfaktor (MIF) bezeichnet wurde (17, 94). Damit begann eine Untersuchungsreihe, in deren Verlauf weitere Substanzen mit Mediatorwirkung entdeckt wurden und immer noch entdeckt werden.

Die Vorstellungen vom Sitz der allergischen Reaktionen wechselten. Zelluläre, insbesondere Nerven- und Gehirnzellen tangierende humorale und wiederum zelluläre Theorien wurden vertreten (57, 77, 88, 155). Auch heute noch herrscht keineswegs völlige Klarheit über den wirklichen Ablauf allergisch bedingter Reaktionen.

2. Histamin

2.1. Vorkommen und Stoffwechsel

Histamin ist in der Natur weit verbreitet. Die Gewebe von Säugetieren enthalten wechselnde Mengen von Histamin; dabei ist die Verteilung auf die einzelnen Gewebe speziesspezifisch. Beim Menschen enthalten Lungen, Haut und Gastrointestinaltrakt die höchsten Histaminkonzentrationen (um 0,01 mg/g Gewebe), wobei gerade bei der Haut die einzelnen Angaben je nach Autor und Meßmethode stark schwanken (9, 10, 101, 146, 152).

Das meiste Gewebshistamin kommt in den Mastzellen vor, die außerdem große Mengen an Heparin enthalten. Sie sind insbesondere im Bindegewebe in naher Beziehung zu den Blutgefäßen lokalisiert (112). In den Gewebsmastzellen wird Histamin gebildet und in den zytoplasmatischen Granula gespeichert, für die Metachromasie und leichte Lädierbarkeit charakteristisch sind (82, 154, 171). Die Leucinaminopeptidase der Mastzellen spielt hierbei eine wichtige Rolle (95). Dieses Enzym spaltet ziemlich rasch aus histidinhaltigen Peptiden Histidin ab, das durch die Histidindekarboxylase der Mastzellen in Histamin umgewandelt wird (149). Die Histidindekarboxylase-Aktivität der Haut ist bei den einzelnen Tierarten nicht sehr unterschiedlich. Sie ist jedoch verstärkt bei entzündlichen Wundheilungen, bei Katecholamingabe und beim Feten ab dem 5. Monat, was eine Relation zu mütterlichen Dermatosen mit Pruritus vermuten läßt (173).

Histamin findet man ferner in Thrombozyten sowie in basophilen Leukozyten (Blutmastzellen). Daneben wurde festgestellt, daß Histamin gerade bei Meerschweinchen in etwa sechs- bis zehnmal höherer Konzentration in den Lymphozyten als in den neutrophilen Granulozyten vorhanden ist (152).

Die Inaktivierung des Histamins erfolgt durch enzymatische Azetylierung, N-Methylierung am Imidazolring oder sehr schnell durch oxidativen Abbau mit Hilfe der Diaminoxidase (Histaminase), einem Flavoprotein, und weiter durch die Aldehyd-Oxidase zur Imidazolylessigsäure (46, 82, 171).

2.2. Histaminfreisetzung

Histamin kann durch Histaminliberatoren, wie compound 48/80, oder im Verlauf von Antigen-Antikörper-Reaktionen freigesetzt werden. Über den Vorgang der Freisetzung gibt es verschiedene Theorien (125, 154, 171, 173):

- a) Histamin ist in Zellen oder subzellulären Partikeln eingeschlossen und wird von dort aus durch Zellzerstörung bzw. durch eine Steigerung der Zellpermeabilität liberiert.
- b) Histamin ist an eine Zellsubstanz locker gebunden und kann von dort durch physikalische oder durch physikalisch-chemische Vorgänge verdrängt und in Freiheit gesetzt werden.
- c) Histamin ist intrazellulär an Protein gebunden und wird aus dieser Bindung durch die Wirkung proteolytischer Enzyme frei. Mit Hilfe differenzierter biochemischer Methoden ließen sich histaminliberierende Enzymsysteme in den Mastzellen näher präzisieren.

Als entsprechende Enzyme wurden bereits das intrazelluläre Chymotrypsin und die zumindest teilweise in den Lysosomen lokalisierte Phospholipase A genannt (125, 163, 171). Daneben wird eine Histaminliberierung durch ein kationisches lysosomales Protein postuliert (10, 15, 68, 128).

Bei der Histaminfreisetzung dürfte es sich wohl um einen energiefordernden, sekretorischen Prozeß handeln, der zwar nicht an die Anwesenheit von Sauerstoff gebunden ist, sofern die benötigte Energie durch die Glykolyse zur Verfügung steht. Die plasmatischen Mikrotubuli

sollen dann die histaminenthaltenden Granula zur Zellmembran befördern. Dort soll eine Fusion der Granulamembran mit der Zellmembran stattfinden, wobei der Granulainhalt in den extrazellulären Raum geleert wird (86, 183). Die Histaminfreisetzung ist also nicht an eine Zerstörung der Mastzellen gebunden (167).

Die freisetzbare Histaminmenge ist maximal begrenzt, ohne daß prinzipiell eine Abhängigkeit vom totalen Histamingehalt der Gewebe besteht. Das freigesetzte Histamin ist aber durch die Spezifität der Immunreaktion bedingt, ein Umstand, der für die Objektivität eines Tests der "in-vitro-Histaminfreisetzung" bei allergischen Erkrankungen spricht. Die Menge an freigesetztem Histamin hängt außerdem von der Antigenkonzentration ab; für diese Methode muß deshalb eine Antigenkonzentration gewählt werden, die eine optimale, nicht maximale Histaminfreisetzung verursachen kann (10).

2.3. Histaminwirkungen bei allergischen Soforttyp-Reaktionen

Im Vordergrund stehen die Histaminwirkungen auf das Gefäßsystem, die glatte Muskulatur, die exkretorischen Drüsen und auf die sensiblen, den Juckreiz perzipierenden Nervenendigungen (82, 154, 171). Die Wirkungseffekte treten unmittelbar, das heißt 15 bis 30 sec nach der Applikation bzw. der Freisetzung von Histamin, ein und laufen schnell ab; Histamin ist somit als Mediator des initialen Reaktionsgeschehens aufzufassen. Man bezeichnet es deshalb auch als Übermittler der 1. Phase der entzündlichen Reaktion (171, 173).

Der Histamineffekt auf das Gefäßsystem ist abhängig von der Konzentration; eine Histaminlösung von 0,01 % führt initial zu einer Konstriktion und anschließend zu einer Dilatation aller Gefäßanteile des betroffenen Gebietes. Die Kapillar- und Arteriolenenerweiterung veranlaßt meist nur einen kurzdauernden Blutdruckabfall. Höhere Histaminkonzentrationen führen zu strukturellen Veränderungen der Kapillarwand; es kommt zur Verquellung der Endothelien, zu einer Permeabilitätserhöhung mit Plasmaaustritt, zur Ödembildung und zu den Folgen eines mangelhaften Stoffaustausches. Ein Effekt auf die glatte Muskulatur stellt sich schon bei kleinsten Histaminmengen als eine unmittelbare, teilweise spastische Kontraktion der Bronchien, des Darmes und des Uterus ein. Die exkretorischen Drüsen werden

durch Histamin zu vermehrter Sekretion angeregt. Die Folgen sind Tränenfluß, exzessive seröse Nasensekretion, vermehrte Tracheal-, Bronchial-, Speichel- und Schweißdrüsensekretion sowie eine Hypersekretion von Magen-, Pankreas- und Duodenalsaft. Histamin löst über die Reizung spezifisch erregbarer sensibler Nervenendigungen der Haut Juckreiz aus. Dazu genügen schon kleinste Histaminmengen, die weder eine Gefäßdilatation noch ein Ödem zu provozieren vermögen (171).

Allergische Erkrankungen, die im überwiegenden Maße auf Histamin zurückgeführt werden können, sind in erster Linie der anaphylaktische Schock, das Asthma bronchiale, der Heuschnupfen, das Quincke-Ödem und verschiedene Formen der Urtikaria (60, 92, 124). Bei der Atopie ist seine Mitwirkung umstritten (35, 59, 173).

Auf die verschiedenen Fragen der Histaminhemmung mit Antihistaminika durch kompetitiven Angriff auf die postulierten Rezeptoren (34, 82, 176) oder auf die teilweise sehr heftig geführten Diskussionen über eine etwaige Histaminopexie (5, 44, 70, 174, 175), d.h. über eine Plasmabindung von freiem Histamin, wie sie von PARROT gefordert und auch bewiesen wurde (121), kann hier nicht näher eingegangen werden. Ein interessantes Phänomen sei aber abschließend noch erwähnt: die eventuelle Antihistaminwirkung der eosinophilen Granulozyten, die als einzige Blutzellen selbst kein Histamin enthalten und bei allergischen Hautreaktionen, bei denen vorwiegend Histamin freigesetzt wird, im Hautfenster vermehrt beobachtet werden können (2, 24, 84, 106, 123, 152, 170, 179).

2.4. Histamin bei allergischen Spättyp-Reaktionen

INDERBITZIN konnte 1955 nachweisen, daß bei der Spätreaktion vom Ekzem- oder Tuberkulin-Typ nach 3 bis 6 Stunden in der Haut ein langsamer Histaminanstieg stattfindet mit starker Erhöhung nach 12 Stunden, einem Maximum nach 48 bis 72 Stunden und einem Abfall auf normale Werte nach 96 bis 120 Stunden (156). Diese Beobachtungen wurden in letzter Zeit von anderen Autoren wieder bestätigt (1, 59, 83, 181, 185). Es wurde darüber hinaus sogar eine verstärkte Histidindecarboxylase-Aktivität in der Epidermis und oberen Dermis festgestellt (150). Auch wird vereinzelt die antiexsudative Wirkung von Antihistaminika bei allergischem Kontaktekzem dargestellt (34); viele Autoren wenden sich aber immer noch entschieden gegen eine Wirkung der Histaminhemmstoffe bei der Spättyp-Reaktion (115, 156).

Ferner soll bei dieser Erkrankungsform gegenüber Normalwerten eine leicht erniedrigte Histaminopexie vorliegen (121, 174). Desgleichen sollen vermehrt eosinophile Granulozyten im Infiltrat zu finden sein (118).

2.5. Histamin bei toxischen Hauterscheinungen

Bei Verbrennungen der Haut findet sich ein deutlicher Anstieg des Histamins im Blut und in der geschädigten Haut. Steigerungen bis auf das Zehnfache des Ausgangswertes sind bei ausgedehnten Verbrennungen keine Seltenheit (23, 158, 186). Dies dürfte vor allem auf die starken Zellzerstörungen zurückzuführen sein.

Ein ähnlicher Anstieg des Histamins wird auch bei der UV-Bestrahlung von Hautflächen festgestellt. Hier sprechen für die Histamin-Theorie ELLINGERS, nach der das UV-Erythem im wesentlichen eine Histaminwirkung darstellen soll (166), die Beobachtungen, daß durch Bestrahlung von Histidin Histamin entsteht, und auch die Erythembildung in der Haut nach Injektion von Histidin verstärkt wird. Diesbezügliche Zusammenhänge sind jedoch noch nicht völlig geklärt. Die lange Bestandsdauer des UV-Erythems läßt nämlich vermuten, daß Histamin allenfalls für die flüchtigen Anfangsreaktionen und nicht ausschließlich für die gesamte Erythembildung und die auftretende Blutdrucksenkung verantwortlich ist (164).

3. Serotonin

Im Gegensatz zur Fülle an Fakten über allergische Reaktionen mit Histamin erscheint die entsprechende Literatur über Serotonin und die anderen potentiellen Mediatorsubstanzen der Soforttyp-Reaktionen vergleichsweise gering. Dies liegt vor allem daran, daß die Mitwirkung von Histamin beim allergischen Geschehen im Menschen weitgehend gesichert scheint, während die der anderen Substanzen zumindest fraglich ist, wenn nicht gar verneint wird (154, 171, 173).

In den Geweben von Säugetieren ist Serotonin oder 5-Hydroxytryptamin insbesondere in der Mukosa des Gastrointestinaltraktes zu finden, in etwas geringerem Maße auch im Gehirn. Bei der Ratte und bei der Maus enthalten die Mastzellen ebenso Serotonin wie Histamin. Von den

Blutzellen enthalten beim Menschen die Thrombozyten eine erhebliche Menge an Serotonin. Es entsteht unter Mitwirkung der 5-Hydroxytryptophan-Dekarboxylase aus der Aminosäure Tryptophan durch Dekarboxylierung und Einführung einer Hydroxylgruppe in Stellung 5, existiert im Gewebe in seiner endgültigen Form und wird durch entsprechende Reize freigegeben. Thrombozyten besitzen die Fähigkeit, das Serotonin mit Hilfe eines aktiven Transportmechanismus, der in Zusammenhang mit Adenosintriphosphat steht, aufzunehmen. Es wird durch eine Aminoxydase, die in vielen Geweben und im Plasma zu finden ist, zu 5-Hydroxyindolessigsäure abgebaut und dann ausgeschieden (82, 154).

Während Serotonin für die Auslösung gewebsgebunden ablaufender anaphylaktischer Phänomene bei Maus und Ratte wegen des hohen Mastzellengehalts von Bedeutung sein dürfte (33, 173), ist seine Mitwirkung bei menschlichen Allergieformen umstritten. Zwar findet sich Serotonin in Extrakten von mastzellreichen Hautpartien (69), doch wird es andererseits im menschlichen Blut in erheblichem Umfang und umgehend zerstört (154, 171).

Da Serotonin vornehmlich die glatte Muskulatur beeinflusst (82), besteht zum Teil die Ansicht, daß es einen asthmogenen Effekt beim Menschen vorwiegend mittels der Vasokonstriktion der Pulmonalarterien und weniger über den bronchomotorischen Mechanismus entfaltet. Diese Anschauung wird dadurch unterstützt, daß die Exkretionsrate von 5-Hydroxyindolessigsäure im Urin von Asthmapatienten mit der Schwere des Bronchialasthmas proportional geht, und daß Serotonin-Antagonisten, wie das Cyproheptadin, allergische Manifestationen wirkungsvoll beeinflussen können (25, 171).

In neueren Veröffentlichungen wurde vor allem von russischen Autoren ein erheblicher Anstieg des Serotoningehalts der Haut in akuten Stadien von Neurodermitis und Ekzem festgestellt. Parallel dazu war auch die Ausscheidung von 5-Hydroxyindolessigsäure erhöht (37, 38, 40, 80).

Darüber hinaus existieren Untersuchungen analog der Histaminopexie auch über eine Serotoninopexie (129); gleichzeitig sollen hier die Eosinophilen einen neutralisierenden Effekt ausüben (180). Ein eindeutiger Beweis für die Mitwirkung des Serotonins bei menschlichen Allergien steht jedoch immer noch aus; seine Rolle beim UV-induzierten Erythem ist ebenfalls noch nicht geklärt (169).

4. Slow reacting substances (SRS)

Unter dieser Bezeichnung werden Stoffe verstanden, die bei der Durchströmung von Meerschweinchenlungen mit Schlangengiften zusammen mit Histamin freigesetzt werden und in Gegenwart von Antihistaminika eine Kontraktion des atropinisierten Meerschweinchendarms hervorrufen (154). Da die Kontraktion viel langsamer als bei Histamin verläuft, wurde der Name "slow reacting substances" geprägt.

Über die chemische Natur, Bildung und biologische Bedeutung bestehen noch Unklarheiten; doch soll es sich zumindest bei SRS-A, wobei "A" für "Anaphylaxie" steht, um eine fettlösliche Substanz handeln, die möglicherweise irgendeine Beziehung zu Leukozyten aufweist, da sie in leukopenischen Ratten nicht zu finden ist. Es wird aber auch diskutiert, ob es sich nicht eventuell um Prostaglandinabkömmlinge handelt (173).

Es besteht in der Zwischenzeit wohl kein Zweifel mehr darüber, daß SRS-A beim menschlichen Asthma, vor allem am Status asthmaticus, beteiligt ist. Ob sie noch andere Wirkungen beim Menschen hat als die auf die Bronchialmuskulatur, ist bisher nicht bekannt (25, 171). Nach einer Veröffentlichung von SHERMAN (143) soll sie neben Histamin auch die Hauptrolle bei der Atopie spielen. Eine Bestätigung dieses Befundes steht noch aus.

SRS-A wird im Gegensatz zu Histamin während der anaphylaktischen Reaktion sowohl neu gebildet als auch freigesetzt (25, 92, 154). Die Mastzellenzahl eines Gewebes zeigt dabei gute Parallelität zur Menge an gebildeter SRS-A. Da sie jedoch in Extrakten aus Mastzellen nicht nachweisbar ist, muß angenommen werden, daß der gleiche Mechanismus enzymatischer Art das Freiwerden von Histamin und die Bildung von SRS-A bewirkt (55, 125). Das freisetzende Enzym soll auch hier wieder Phospholipase A sein (35).

Diäthylcarbazin führt jedesmal zu einer Hemmung der Freisetzung von SRS-A, während Substanzen mit Wirkung auf das cyclische Adenosinmonophosphat (cAMP) zum Teil zu einer Hemmung, zum Teil aber auch zu einer vermehrten Freisetzung führen, so daß hier keine klare Beziehung zwischen cAMP und SRS-A vorliegt (114). Für Histamin dagegen soll gelten, daß ein Anstieg von cAMP die Freisetzung von Histamin aus den Mastzellen verhindert (130, 142, 182).

5. Azetylcholin

Die Azetylcholin-Hypothese der Anaphylaxie wurde durch die Histamin-Theorie immer mehr verdrängt. Aus letzter Zeit liegen zwar wieder Berichte vor, daß Darmsegmente von sensibilisierten Kaninchen und Meerschweinchen nach der Antigenzugabe durch Azetylcholin zur Kontraktion gebracht werden (154) und daß es bei der Neurodermitis atopica eine große Rolle spielen soll (9). Andere Untersuchungen zeigen jedoch, daß ihm nur eine unterstützende und die Reaktionsbereitschaft steigernde, nicht aber eine kausale oder reaktionsauslösende Wirkung zuzuschreiben ist (51, 171).

6. Heparin

Heparin, das 1918 von HOWELL entdeckt wurde, ist ein Mukoitinpolyschwefelsäureester mit einem Molekulargewicht um 20 000; es übt seine gegen Thrombin und Prothrombin gerichtete gerinnungshemmende Wirkung durch sehr starke negative elektrische Ladung aus. Bildungs- und Depotstätten sind bevorzugt die Mastzellen, deren Granulametachromasie auf dem Heparin Gehalt beruht (152).

In der Leber von Hunden, die einen anaphylaktischen Schock erhielten, konnte Heparin gleichzeitig mit Histamin nachgewiesen werden. Die Verlängerung der Gerinnungszeit durch Heparin ist ein seit langem bekanntes Symptom des anaphylaktischen Schocks (154). Beim Menschen ist in Verbindung mit allergischen Reaktionsmanifestationen eine dezisive Störung der Blutgerinnung nicht anzutreffen; meist ist sie sogar gesteigert (171). Ein Anhalt für die Bildung und Intervention von freiem Heparin besteht also nicht, sofern man nicht den Antihistamineffekt, wie er verschiedentlich auch bei DNCB-Ekzem beschrieben wurde, in Betracht ziehen will (19, 117, 139).

7. Anaphylatoxin

Anaphylatoxine sind Substanzen, die zur Zeit nur biologisch definiert werden können: Im Serum sensibilisierter Tiere sollen nach Zugabe des Antigens toxische Stoffe entstehen, die anaphylaktische Symptome auslösen können (154). Sie besitzen ein Molekulargewicht von etwa 10 000. Chemisch gesehen handelt es sich wahrscheinlich um Polypeptide,

bei denen Arginin in der amino-terminalen Position steht. Man hat im Anaphylatoxin auch Kohlenhydrate nachgewiesen; allerdings ist bis jetzt nicht bekannt, ob sie zur biologischen Funktion unerlässlich sind (45).

Mehrere Beobachtungen sprechen dafür, daß Anaphylatoxin eine histamin-liberierende Wirkung besitzt und durch Vermittlung von Histamin die funktionell faßbaren Symptome herbeiführt. Auch Beziehungen zwischen Anaphylatoxinbildung und Serumkomplement sind aufgedeckt worden. Danach dienen sowohl C'3 wie auch C'5 als Muttersubstanzen, sogenannte Anaphylatoxinogene, für zwei biologisch gleichartige Anaphylatoxine (45, 116, 154). Näheres ist im Abschnitt über das aktivierte Komplement zu finden.

8. Aktivierung von Enzymen

Die Aktivierung proteolytischer Enzyme und die Erzeugung oder Freisetzung biologisch aktiver Substanzen durch diese Enzyme ist bereits zu Beginn der Anaphylaxieforschung immer wieder mit dem Mechanismus anaphylaktischer Phänomene in Verbindung gebracht worden. Diese Überlegungen gründen sich auf folgende Argumente:

- a) Allergische Reaktionen führen zu einer gesteigerten enzymatischen Aktivität in Körperflüssigkeiten, Geweben und isolierten Zellen (116). Menschen und Meerschweinchen zeigten auch bei allergischen Spättyp-Reaktionen, z.B. beim DNCB-Ekzem, eine Steigerung der fibrinogenolytischen und fibrinolytischen Aktivität des Harnes (126, 165).
- b) Die Zufuhr von Enzymen, speziell von Proteasen, führt zum Auftreten anaphylaktoider Reaktionen.
- c) Allergische Reaktionen können durch Enzyminhibitoren gehemmt werden.

Natürlich rufen auch verschiedene unspezifische Reize, wie z.B. Bestrahlung, eine Proteaseaktivierung im Serum hervor. Die beschriebenen Enzymaktivierungen sind daher für die allergische Reaktion nicht spezifisch (152). Histologische Untersuchungen haben dagegen gezeigt, daß die unspezifischen Reize ebenso wie anaphylaktoiden Agenzien zu einer Degranulierung von Mastzellen führen, die sich von den allergischen Reaktionen in quantitativem Ausmaß und zeitlichem Auftreten unterscheidet (125).

8.1. Trypsin

Die Zugabe von Trypsin zu isolierten Meerschweinchenlungen, zum heparinisierten Kaninchenblut oder zur durchspülten Hundeleber führt zu einer Histaminliberierung. Eine lokale Applikation von Trypsin verursacht ebenfalls eine Histaminfreisetzung. Trypsin und Thrombin setzen aus menschlichen Thrombozyten in vitro auch Serotonin frei. Trypsin oder Schlangengift lassen dagegen aus Plasmaprotein Bradykinin entstehen (125, 154). Weiter schädigt Trypsin in der Spättyp-Reaktion sensibilisierte Lymphozyten, inaktiviert die Mediatorsubstanz MIF und verändert die Reaktivität des Makrophagen (17, 156).

8.2. Plasmakinine

Im Ablauf anaphylaktischer Reaktionen werden Enzymsysteme aktiviert, die aus Plasmaproteinen gewebeaktive Polypeptide, die "Plasmakinine", zu bilden vermögen. Die bekannteste der so entstehenden Substanzen ist das Bradykinin, ein Nonapeptid, das durch Trypsin, Plasmin oder Kallikrein gebildet wird.

Die Plasmakinine haben fünf pharmakologische Wirkungen: Sie erhöhen die Membranpermeabilität, vornehmlich der Kapillaren, führen zu einer Vasodilatation im Bereich von Arteriolen und Kapillaren mit konsekutivem Blutdruckabfall (81), erregen die glatte Muskulatur und veranlassen dadurch eine langsam ablaufende, aber kräftige Kontraktion; des weiteren verstärken sie die Leukozytenwanderung und stimulieren Schmerzfasern (105, 154, 171).

Die Kinine beteiligen sich wahrscheinlich an den verschiedenen Entzündungsprozessen, da u.a. die Inaktivierung des Plasmakallikreins im sauren Milieu langsamer erfolgt. Hohe Kininaktivität findet sich denn auch in der sogenannten 2. Phase der Entzündung (25, 173).

Allergische Erkrankungen, die sich durch erhöhte Kinin- und niedrige Kininogenspiegel sowie durch verstärkte Kallikrein- bzw. verminderte Kininasetätigkeit auszeichnen, werden zwar ebenso wie die durch Bradykinin hervorgerufene Eosinophilie im "Hautfenstertest" (178) in letzter Zeit wieder vermehrt angeführt (39, 41, 90, 102, 127, 159, 160), doch darf vermutet werden, daß die Wirkung des Bradykinins mehr die eines Vermittlers der Entzündung als der Allergie ist. Seine Aktivierung mag daher eher als begleitende denn als auslösende Reaktion angesehen werden (92).

8.3. Lysosomale Enzyme

Aufgrund quantitativer Bestimmungen des charakteristischen lysosomalen Enzyms, der sauren Phosphatase (163, 177), in Blutserum, Leber- und Lungengewebe konnte erwiesen werden, daß auch im anaphylaktischen Schock der Meerschweinchen - ähnlich wie in anderen Schockzuständen - typische schockartige lysosomale Veränderungen auftreten. Die Pathogenese dieser Veränderungen stellt man sich wie folgt vor:

Histamin und andere Mediatoren werden durch den Antigen-Antikörper-Kontakt aus den Mastzellen der Lunge freigesetzt und führen durch multiple Bronchiolostenose zu einer Gewebsazidose, die ihrerseits eine Steigerung der Permeabilität der Lysosomenmembran zur Folge hat. Die aktivierten lysosomalen Hydrolasen gelangen so ins Zytoplasma bzw. von hier in die allgemeine Zirkulation; dies erklärt die ausgeprägte Erhöhung der sauren Phosphatasekonzentration im Serum. Sie entfalten nunmehr eine lokale und entfernte deletäre Wirkung, wodurch es zu irreversiblen Funktionsstörungen der lebenswichtigen Organe kommt. Darüber hinaus werden in den Zellen zahlreiche neue Lysosomen gebildet, die die lysosomalen Enzyme ebenfalls in gesteigertem Maße produzieren (63).

Dieser Mechanismus läßt erneut die tragende Rolle der Lysosomen und ihrer Enzyme bzw. Produkte bei der allergischen Reaktion erkennen.

9. Aktivierung des Komplementsystems

Als Komplement wird ein aktivierbares System von neun Proteinfaktoren im Normalserum des Warmblüters bezeichnet. Die Aktivierung des Systems erfolgt in der Regel durch Antigen-Antikörper-Komplexe; sie bewirkt eine Serie von biochemischen Reaktionen zwischen dem Antigen-Antikörper-Komplex und den Komplementfaktoren. Diese Reaktionen führen in einigen Fällen zur Membranschädigung der betroffenen Zelle bzw. zur Neutralisation von Viruspartikeln; in anderen Fällen lösen sie die allergische Entzündung aus und unterhalten sie. Durch die Membranschädigung stirbt die Zelle in der Regel ab. Das Komplementsystem ist mithin ein Vermittler zwischen dem einleitenden Prozeß der immunologischen Leistungsreaktion, nämlich der Bildung des Antigen-Antikörper-Komplexes einerseits und den nach Vollendung dieser Reaktion auftretenden biologischen Phänomenen der Entzündung

und der Ausschaltung von Fremdmaterial andererseits. Die Funktionen des Komplements sind also sehr vielseitig. Hier sollen jedoch nur die für die Mediatorwirkung wichtigen Punkte erwähnt werden.

Die Aktivierung einer Komponente des Komplementsystems ist ein enzymatischer Vorgang. Einige Komplementkomponenten werden durch die Aktivierung in Teilstücke gespalten, die für den weiteren Ablauf der Reaktionssequenz unwichtig sind; sie können aber Träger biologischer Aktivitäten sein, wie beispielsweise Histaminfreisetzung und Chemotaxis. So wird C'3 bei seiner Aktivierung in zwei Teilstücke gespalten. Das kleinere Bruchstück C'3a verbleibt in der flüssigen Phase; es ist nicht nur ein starker Histaminliberator und wird den Anaphylatoxinen zugerechnet, sondern besitzt auch hohe leukotaktische Aktivität. Seine Wirkung erstreckt sich auch auf eosinophile Granulozyten. Der Umsatz von C'5 führt desgleichen zu einem Bruchstück mit leukotaktischer Aktivität, das ebenfalls ein Anaphylatoxin darstellt und mit C'5a bezeichnet wird.

Zum Abschluß sei noch kurz erwähnt, daß Komplement als Auslösefaktor bei Entzündungen durch toxische Substanzen keine Rolle spielt (43, 45, 92, 151).

10. Weitere Mediatoren

Immer wieder werden neben den oben ausführlich geschilderten Überträgersubstanzen neue Stoffe untersucht oder entdeckt, von denen im folgenden nur drei genannt werden sollen:

10.1. Prostaglandine

In mehreren Studien wurde darauf hingewiesen, daß Prostaglandine Vermittler von entzündlichen und allergischen Reaktionen sind. Intradermale Injektion von Prostaglandinen induziert beispielsweise erhöhte Gefäßpermeabilität bei der Ratte und beim Menschen. Gleichzeitig sinkt der Histamingehalt der Haut ab, was zu einer geringeren Reaktion von allergisch ausgelösten Mechanismen führt (148). Prostaglandine werden auch im anaphylaktischen Schock aus sensibilisiertem Lungengewebe freigesetzt. Sie liegen ferner in entzündlichen Exsudaten der Ratte und in der Lymphe von verbrühtem Gewebe vermehrt vor. Die langdauernde entzündliche Reaktion, die UV-Strahlen an der menschlichen

Haut nach einer Latenzperiode induzieren (164), wurde in neueren Untersuchungen ebenfalls mit den Prostaglandinen in Verbindung gebracht.

Da sie die Akkumulation von intrazellulärem cAMP modifizieren, das auch in der Haut vorhanden ist und im Zusammenhang mit der Histamin-freisetzung diskutiert wird, dürfte sich ihre Rolle mehr auf eine Vermittlung der entzündlichen Reaktion erstrecken, ähnlich der der Kinine (60, 161, 173, 188).

10.2. Mediatoren der Arthus-Reaktion

Die Reaktion vom Arthus-Typ läuft nach COCHRANE folgendermaßen ab: Die Antigen-Antikörper-Reaktion führt zur Fixation und Aktivierung von Komplement, wobei dem C'5-6-7-Komplex besondere Bedeutung zukommen soll. Er soll nämlich die Anhäufung von polymorphkernigen Leukozyten bewirken, die nun ihrerseits Kathepsine, eine sogenannte "granulocytic substance" und andere Permeabilitätsfaktoren freisetzen sollen, die schließlich die morphologischen Veränderungen herbeiführen (14, 92).

10.3. Permeability increasing factor (PIF)

INDERBITZIN (54) berichtet über einen von ihm aufgefundenen, bisher unbekannten gefäßaktiven Stoff, den er als "permeability increasing factor" (PIF) bezeichnet. In sehr kleinen Dosen führt diese Substanz eine massive Erhöhung der Durchlässigkeit der Hautgefäße von Laboratoriumstieren herbei.

Die chemische Konstitution des PIF ist noch nicht geklärt. Es handelt sich jedoch weder um ein Ferment noch um ein Kinin, aber um einen hochwirksamen Histaminliberator. Am Ort entzündlicher Hautreaktionen wurden bei Laboratoriumstieren Konzentrationsveränderungen des PIF festgestellt, die auf seine Mitbeteiligung am entzündlichen Reaktionsgeschehen hinweisen. Insbesondere wurden in der zweiten, sich am kapillären und am terminalen arteriellen Anteil des Gefäßsystems abspielenden, durch Antihistaminika nicht beeinflussbaren Phase der Gefäßpermeabilitätssteigerung erhöhte PIF-Konzentrationen festgestellt.

Viele der übrigen Stoffe, z.B. die sogenannten Leukotaxine von MENKIN (25, 173), die früher vor allem bei der Spättyp-Reaktion postuliert wurden, dürften mittlerweile den im Anschluß zu besprechenden Lymphokininen Platz gemacht haben.

11. Zusammenfassung

1. Es scheint klar zu sein, daß durch die Histaminwirkung nur eine beschränkte Zahl anaphylaktischer Manifestationen erklärt werden kann wie Pruritus, Urtikaria, angioneurotisches Ödem und ein Anteil des Blutdruckabfalls.
2. SRS-A kann gut eine Rolle bei der Entstehung des Bronchospasmus spielen, während Plasmakinine durchaus den schweren Gefäßkollaps mit Blutdruckabfall vermitteln können, der manche anaphylaktische Reaktionen kennzeichnet.
3. Zur Zeit gibt es keine gesicherten Tatsachen, die auf eine Mitwirkung von Serotonin, Azetylcholin und Heparin bei allergischen Reaktionen schließen lassen, während die Aktivierung von Enzymen und des Komplementsystems allgemein anerkannt wird, obwohl noch keine völlig klaren Verhältnisse herrschen.

IV. Mediatorsubstanzen der Spättyp-Reaktionen

1. Einführung

Alle Reaktionen vom Spättyp zeigen ein gemeinsames lokales Bild: eine Entzündung, die beherrscht wird von mononukleärer Infiltration, die sich vor allem aus Lymphozyten und Abkömmlingen der Blut-monozyten zusammensetzt. Durch Verwendung radioaktiver Substanzen konnte festgestellt werden, daß die Mehrzahl dieser Zellen nicht sensibilisiert ist, sondern sekundär in das Geschehen miteinbezogen wird, nachdem die anfängliche spezifische Reaktion zwischen dem Antigen und einigen wenigen sensibilisierten Lymphozyten stattgefunden hat (17, 92, 153).

Über die Auslösung der morphologischen und funktionellen Veränderungen durch Mediatoren bestehen zur Zeit nur Hypothesen, da mehrere Substanzen zwar in vitro - größtenteils durch biologische Methoden - isoliert werden konnten, die Relevanz dieser Faktoren für die In-vivo-Vorgänge jedoch noch nicht zweifelsfrei erwiesen ist. Dennoch spricht mehr für als gegen ihre Schlüsselposition in der Vermittlung zellulärer Immunität, zumal bereits drei Tests, die auf solchen Substanzen basieren, in der Klinik einen gewissen Anwendungsbereich - auch auf dem Soforttyp-Sektor - finden: der Lymphozyten-Transformations-Test, der Makrophagen-Migrationshemmtest und ein Lymphotoxin-Test (11, 21, 87, 99, 137, 153).

Mit Sicherheit sind die Mediatorsubstanzen der Frühreaktionen weder für die primäre zelluläre Reaktion des Spättyps noch für den Mechanismus, der die folgende Zellschädigung veranlaßt, verantwortlich zu machen. Das morphologische Bild dieser Reaktionen ist nämlich weder durch die Applikation dieser Mediatoren zu imitieren noch durch die entsprechenden Antagonisten ausreichend zu beeinflussen; dies ist zumindest die Ansicht der meisten Autoren. Nach allen ihren Untersuchungen spielen Histamin und ähnliche Stoffe bei der Ausbildung der Spätreaktion wahrscheinlich nur eine sekundäre Rolle (171).

Durch die Isolierung der unten näher beschriebenen Faktoren läßt sich die Pathogenese zellulärer Immunreaktionen aber durchaus mit

der humoral bedingter analogisieren. Die Analogie erstreckt sich danach offenbar auch auf die Möglichkeit einer unspezifischen Freisetzung von Mediatoren, nämlich einerseits aus Mastzellen durch sogenannte Histaminliberatoren und andererseits aus Lymphozyten durch sogenannte unspezifische Lymphozytenstimulatoren wie Phytohämagglutinin (PHA) oder Concanavalin A (137).

Da das Gebiet der Mediatorforschung beim Spättyp erst etwa zehn Jahre alt ist, können die aufgeführten Einzelheiten teilweise nur als Fakten hingestellt werden, weil eine plausible Erklärung im Augenblick noch fehlt.

Die folgende Schilderung der Untersuchungsergebnisse und Theorien stützt sich vorwiegend auf eine Veröffentlichung von DAVID und DAVID (17).

2. Transfer-Faktor

Der Versuch LAWRENCEs, bei normergischen Menschen durch Verabreichung zellfreier Lymphozytenextrakte allergische Spätreaktionen zu übertragen, war der Ausgang zur Erforschung eines Faktors, mit dem sich Allergien vom Spättyp auf nicht sensibilisierte Individuen übertragen lassen. Diese Extrakte wurden aus Blutlymphozyten von Spendern, die eine Spätreaktion z.B. gegen Tuberkulin aufwiesen, durch wiederholtes Einfrieren und Auftauen und anschließende Behandlung mit DNase gewonnen. Intakte Zellen waren in den Extrakten nicht mehr festzustellen. Die übertragene Sensibilisierung stellte sich als ganz spezifisch heraus: Eine Reaktion war bei dem Empfänger nur mit dem Antigen auszulösen, gegen das der Spender sensibilisiert worden war. Wenn die sensibilisierten Zellen in vitro mit dem spezifischen Antigen vermischt und inkubiert wurden, verloren sie die Fähigkeit, die Spätreaktivität auf normergische Empfänger zu übertragen.

Der Transfer-Faktor hat einige auffallende Eigenschaften. So bleibt der durch ihn übertragene Reaktionszustand bei einem hohen Prozentsatz der Empfänger nachweislich bis zu zwei Jahren bestehen. Die allergische Spätreaktivität, die durch den Lymphozytenextrakt auf einen normergischen Menschen übertragen wird, läßt sich dann auch mit dessen Lymphozytenextrakt auf weitere Empfänger übertragen (21, 152, 171).

Die Natur des Transfer-Faktors ist nicht genau bekannt, wie dies praktisch bei allen Mediatorsubstanzen der Spättyp-Reaktion der Fall ist. Erstaunlich ist seine Stabilität: Erwärmung auf 37° C für einige Stunden oder Inkubation mit DNase, RNase oder Trypsin vermindern seine Wirkung keineswegs (152). Dennoch wird vermutet, daß es sich bei diesem Faktor um Polynukleotide handelt, da nukleinsäurereiche Extrakte von Immunzellen ähnliche Wirkungen aufweisen (21).

Beziehungen zwischen dem Transfer-Faktor und den anderen sogenannten Lymphokinen werden für sehr wahrscheinlich erachtet. Man nimmt an, daß er in Gegenwart des spezifischen Antigens nicht sensibilisierte Lymphozyten zur Bildung von Lymphokinen anregt. Damit darf man ihn wohl als eine Substanz betrachten, die in den ersten Stadien der Immunreaktion eine Triggerfunktion ausübt, während die Lymphokine als Stoffe bezeichnet werden dürfen, die das Ausmaß der zellulären Reaktionen verstärken und regulieren (21).

Hinsichtlich des Kontaktekzems liegen erst wenige Untersuchungen über die Nachweisbarkeit eines Übertragungsfaktors vor; aus Versuchen von EPSTEIN und KLIGMAN ergibt sich jedoch, daß zellfreie Blasenflüssigkeiten bullöser Epikutanreaktionen die Kontaktekzemallergie, wenn auch nicht bei jedem Allergen, zu übertragen vermögen (138, 152).

Daneben sei noch ein kürzlich gelungener Versuch erwähnt, bei dem das Immunsystem eines Patienten mit kutaner Anergie durch die Injektion von Transfer-Faktor zur Reaktion gegen granulomatöse Candidiasis angeregt wurde (6).

3. Makrophagen-Migrationshemmfaktor (MIF)

1966 erkannten BLOOM und BENNETT und unabhängig von ihnen DAVID, daß Lymphozyten von aktiv sensibilisierten Tieren bei Inkubation mit dem spezifischen Antigen einen löslichen Faktor produzieren und sezernieren, der die zelltypische Migration normaler Makrophagen verhindert (51). Dieser "migration inhibition factor" (MIF) wurde nun genauer untersucht.

Es zeigte sich, daß MIF nur produziert wird, wenn spezifisches Antigen oder unspezifische Stimulatoren wie Concanavalin A (119) mit den sensibilisierten Lymphozyten in der Kultur inkubiert werden.

Der Überstand von Kulturen mit sensibilisierten Zellen ohne Antigen oder mit anderem Antigen ist unwirksam. Dagegen setzen Lymphozyten, die zuerst mit Antigen inkubiert und dann gewaschen wurden, die MIF-Produktion fort. Für die Reaktion zwischen MIF und Makrophagen ist das Antigen ebenfalls nicht notwendig.

Da zur Herstellung von MIF Proteinsynthese nötig ist, handelt es sich bei MIF vermutlich um eine Substanz, die aktiv vom sensibilisierten Lymphozyten produziert wird und nicht einfach um einen vorgefertigten Stoff, der von den Zellen lediglich freigesetzt wird. Dagegen ist nicht sicher, ob der Faktor nicht bereits in einer Vorform im Lymphozyten existiert; obwohl seine biologischen Aktivitäten im Überstand sensibilisierter Lymphozyten deutlich hervortreten, war es bisher nicht möglich, chemische Unterschiede zwischen dem Überstand sensibilisierter und dem nicht sensibilisierter Zellen festzustellen. Dies läßt die Vermutung zu, daß MIF in einer Vorform im Lymphozyten vorhanden ist, die sich von der aktivierten Form chemisch noch nicht unterscheiden läßt.

MIF ist bereits nach 6 Stunden im Überstand von Lymphozyten-Antigen-Kulturen nachweisbar. Demnach kann der Lymphozyt wahrscheinlich den Faktor produzieren, ohne erst eine Transformation oder Teilung vornehmen zu müssen.

Die Eigenschaften des Meerschweinchen-MIF werden wie folgt beschrieben: MIF wird weder durch Dialyse noch durch Erhitzen auf 56°C für 30 min zerstört, während er seine Aktivität verliert, wenn man ihn auf 80°C erhitzt oder unter $1/9$ verdünnt. Da er bei pH 9,1 zur Anode wandert und durch Chymotrypsin und Neuraminidase - jedoch nicht durch DNase und RNase - zerstört wird, vermutet man, daß es sich um ein saures Glykoprotein handelt. Die Wanderungsgeschwindigkeit bei der Elektrophorese läßt auf ein Molekulargewicht von 40 000 schließen (129). Es ist jedoch ohne weiteres möglich, daß mehrere molekulare Arten von MIF existieren.

So wird beispielsweise vom menschlichen MIF berichtet, er sei nicht dialysierbar, besäße ein Molekulargewicht von 25 000 und würde zwar durch Chymotrypsin, nicht aber durch Neuraminidase zerstört. Bevor man allerdings einen Vergleich zwischen dem Faktor des Menschen und dem des Meerschweinchens anstellen kann, müssen weitere Forschungsergebnisse abgewartet werden.

Da über MIF relativ gute Erkenntnisse vorliegen, wird er zum Teil bereits klinisch angewendet. Die Fähigkeit der Lymphozyten diesen Stoff zu produzieren, hat sich als ein Indikator für die Fähigkeit des Patienten erwiesen, überhaupt zellübertragene Hypersensitivitätsreaktionen vom verzögerten Typ auszubilden (65). Ferner dient ein MIF-Test als Nachweis von arzneimittelbedingter, zellulärer Allergie (13, 132). In einer neueren Veröffentlichung werden auch ultrastrukturelle Kernveränderungen bei sensibilisierten Lymphozyten und Makrophagen beschrieben, deren Ursache entweder der MIF oder das Lymphotoxin sein soll (27). Insgesamt gesehen dürfte dieser Faktor bald im klinischen Alltag zur Anwendung kommen, wenn einfachere und weniger zeitraubende Tests entwickelt worden sind.

4. Chemotaktische Faktoren

Unter Verwendung der Boyden-Kammer oder der Mikropore-Filter-Methode konnte festgestellt werden, daß Kulturflüssigkeit von sensibilisierten Lymphozyten, die mit Antigen inkubiert worden waren, chemotaktisch auf mononukleäre Zellen wirkte. Die Aktivität war dosisabhängig von der Menge getesteter Flüssigkeit. Antigen war für die Produktion der chemotaktischen Aktivität notwendig. Sie war auch hier immunspezifisch.

Der Faktor wird bei dreißigminütigem Erhitzen auf 56° C nicht zerstört. Sein Molekulargewicht liegt zwischen 35 000 und 55 000.

Der chemotaktische Faktor kann vom MIF getrennt werden (129). Er wird bei der Acrylamid-Gel-Elektrophorese in der Fraktion A-4 festgestellt, in der auch Albumin enthalten ist, und findet sich nicht in der Fraktion A-3, die MIF enthält. Außerdem ist der chemotaktische Stoff resistent gegen Neuraminidase.

Interessanterweise ist der chemotaktische Faktor noch in Konzentrationen aktiv, in denen die MIF-Aktivität nicht mehr festgestellt werden kann. Ein weiterer Unterschied zwischen MIF und chemotaktischem Makrophagenfaktor der Meerschweinchenlymphozyten besteht in der Reaktion gegenüber den Makrophagen anderer Spezies. Während unkonzentrierte MIF-Präparationen wie üblich die Meerschweinchenmakrophagen in ihrer Migration hemmen, verhindern sie die Wanderung von Kaninchenmakrophagen nicht. Dagegen zieht der chemotaktische Faktor beide Makrophagensorten gleich gut an.

Neben dem eben erwähnten Stoff, der chemotaktisch auf Makrophagen wirkt, wurde ein weiterer Faktor beschrieben, dessen Angriffspunkt die neutrophilen Granulozyten sind. Durch die Ultrazentrifuge konnten die beiden Faktoren voneinander getrennt werden, wobei sich der chemotaktische Faktor für Neutrophile als geringfügig kleiner herausstellte. Er ist auch weniger aktiv in seiner Anziehung der polymorphkernigen Leukozyten als der chemotaktische Faktor in A-4 für die Makrophagen. Allerdings zeigt der letztere keinerlei Anzeichen für eine Chemotaxis auf Neutrophile.

Von der Existenz eines chemotaktischen Faktors für Eosinophile wird ebenfalls berichtet; doch wird diese Aktivität nur angetroffen, wenn Antigen-Antikörper-Komplexe dem Lymphozytenüberstand zugesetzt werden.

5. Makrophagen-aggregierender Faktor (MAF)

Über diesen Stoff ist nur wenig Konkretes bekannt. Man beobachtet eine Anhäufung von Makrophagen, wenn Zellen aus Peritonealexsudat, die von sensibilisierten Tieren gewonnen wurden, mit Antigen inkubiert werden. Diese Makrophagenkonzentrierung wird nach 6 Stunden zum erstenmal beobachtet, erreicht ihren Höhepunkt nach 24 Stunden und besteht 4 Tage lang. Weiter zeigt sich, daß der Überstand von sensibilisierten Lymphozyten, die mit spezifischem Antigen inkubiert wurden, Peritonealexsudatzellen normaler Tiere nach 3 bis 4 Stunden zur Aggregation anregt. Der Effekt ist jedoch nur vorübergehend und verschwindet nach 12 bis 18 Stunden. So wurde für diesen Stoff die Bezeichnung "macrophage aggregation factor" (MAF) geschaffen.

Die Produktion von MAF wird durch Puromycin verhindert; desgleichen wird die Anhäufung von normalen Makrophagen durch MAF in Gegenwart von Puromycin gehemmt. Damit dürfte feststehen, daß auch die Bildung von MAF eine intakte Proteinsynthese benötigt, eine Analogie zum MIF-System.

6. Makrophagen-aktivierender Faktor

Der Mechanismus der Wechselwirkung zwischen Makrophagen und Lymphozyten während der Spättyp-Reaktion ist noch nicht genau bekannt. Die "aktivierten Makrophagen", die von Tieren in einem bestimmten Stadium der Infektion isoliert werden können, dehnen sich stärker

über das Kulturglas aus, sind mehr mit Mitochondrien und Lysosomen ausgestattet und besitzen größere Phagozytoseeigenschaften als ihre normalen Gegenstücke. Solche Zellen haben eine erhöhte bakterizide Kapazität, die sich nicht nur gegen das infizierende Antigen richtet. Die Fähigkeit, aktivierte Makrophagen zu entwickeln, kann von sensibilisierten Lymphozyten übertragen werden; Antilymphozytenserum verhindert eine Übertragung, die auch spezifisch zu sein scheint. Bei Röntgenbestrahlung von Tieren kann die Übertragung nicht stattfinden, weil die sich schnell teilenden Vorstufen der Makrophagen zerstört werden. Dies läßt vermuten, daß bei der zellulären Immunität die unspezifische Komponente vom Makrophagen und die spezifische vom Lymphozyten dargestellt wird. Es scheint daher die Annahme gerechtfertigt, daß die Mediatoren, die die beiden Komponenten verbinden, auch in die Funktion des Makrophagen eingreifen.

Die Existenz eines oder mehrerer löslicher Faktoren, die aus spezifisch stimulierten Lymphozyten isoliert werden und bestimmte Makrophagenfunktionen verstärken können, ist deshalb nicht überraschend. Die beobachteten Effekte sind unabhängig von Antikörpern, einschließlich der zytophilen Antikörper, und von Antigen oder Antigen-Antikörper-Komplexen. Sie finden sich auch, wenn eine MIF-reiche Fraktion zur Untersuchung verwendet wird, die 3 Tage lang mit Makrophagen inkubiert wurde.

Die Effekte stellen sich im einzelnen wie folgt dar:

1. vermehrte Haftfähigkeit der Makrophagen an den kultivierenden Gefäßen;
2. gesteigerte Phagozytoseaktivität;
3. stärkere Proteinsynthese;
4. höhere Zytoplasmamembran-Aktivität;
5. erhöhte Stimulation des Hexosemonophosphat-Shunts (HMPS) mit verstärkter Glukoseoxidation.

Die höhere Zytoplasmamembran-Aktivität hat eine vermehrte Migrationsfähigkeit zur Folge, d.h., die normalerweise beobachtete Hemmung der Wanderungsfähigkeit wird durch verstärkte Migrationstätigkeit abgelöst.

Bei der erhöhten Stimulation des HMPS konzentrieren sich die Spekulationen auf zwei biochemische Prozesse; beide benötigen das reduzierte NADPH und produzieren die oxidierte Form NADP^+ , deren Spiegel den HMPS reguliert:

- a) der erste Prozeß ist die Bildung von Membranlipiden, die für eine erhöhte Phagozytose oder für die vermehrte Wanderungsfähigkeit des Makrophagen benötigt werden;
- b) der zweite Vorgang ist die verstärkte Abtötung von mikrobiellen Organismen durch die Produktion von Wasserstoffperoxid H_2O_2 , das vom HMPS gebildet wird und bereits im polymorphkernigen Leukozyten als bakterizide Kapazität bekannt ist.

Die chemische Natur des Makrophagen-aktivierenden Faktors und seine Beziehungen zum MIF und anderen Mediatoren müssen noch erschlossen werden. Es gibt allerdings bereits Stimmen, die seine Trennbarkeit vom MIF bezweifeln.

7. Zytotoxische Faktoren

Verschiedene Untersuchungen lassen vermuten, daß unter entsprechenden Bedingungen Lymphozyten, die mit Phytohämagglutinin inkubiert werden, oder sensibilisierte Lymphozyten, die mit dem spezifischen Antigen stimuliert werden, einen löslichen Stoff produzieren, der einige Zellen bei der Kultivierung angreift und offensichtlich tötet (18). Dennoch ist der lymphotoxische Faktor mehr umstritten als andere Mediatoren. Es wurden auch bereits mehrere Substanzen beschrieben, die zum Teil speziesspezifisch sind und sich in ihren Eigenschaften unterscheiden. Hier soll nur vom menschlichen Faktor, dem "human lymphotoxin", berichtet werden.

Dieser lymphotoxische Faktor kann aus Lymphozyten gewonnen werden, die man aus menschlichem Drüsengewebe isoliert. Er wird aber auch durch Stimulierung von Lymphozyten mit PHA, Pokeweed-Mitogen, Streptolysin O und gemischten Lymphozytenkulturen produziert. Darüber hinaus findet er sich im Überstand von PPD- oder Histoplasmin-sensibilisierten Zellen nach der Inkubation mit dem spezifischen Antigen.

Seine Eigenschaften werden folgendermaßen beschrieben: Sein Molekulargewicht beträgt 80 000 bis 90 000; seine Aktivität bleibt bei einer einstündigen Inkubation bei 56° C voll erhalten, erlischt jedoch sofort bei Erhitzung auf 100° C für nur 2 min. Er ist stabil bei einem pH zwischen 5 und 8 und verliert seine Aktivität erst völlig bei pH 2 oder 11. Gegen RNase, DNase oder Trypsin ist er resistent. Bei pH 8,6 ist die Substanz schwach geladen und bewegt sich elektrophoretisch wie ein schnelles Gamma- oder ein langsames Betaglobulin.

8. Zellproliferation-beeinflussende Faktoren

In dieser Gruppe unterscheidet man den "cloning inhibitory factor" vom "proliferation inhibitory factor" (PIF).

Ersterer ist nicht dialysierbar und verliert seine Aktivität bei Erhitzung auf 56° C für 30 min, eine Eigenschaft, die ihn von MIF und human lymphotoxin unterscheidet. Darüber hinaus kann bei ihm keine zelltötende, sondern nur eine wachstumshemmende Aktivität festgestellt werden.

PIF dagegen ist stabil bei 85° C für 30 min, nicht dialysierbar, läßt sich bei 90 000 g nicht sedimentieren und wird durch Trypsin zerstört. Die Hitzestabilität unterscheidet ihn vom "cloning inhibitory factor". Seine Wirkung ist reversibel; wenn er entfernt wird, beginnen die gehemmten Zellen wieder zu proliferieren.

Interessanterweise hindert der untersuchte PIF nur menschliche Zellen an der Proliferation. Es wird daher vermutet, daß PIF in vivo das Wachstum von Transplantaten oder Tumoren hemmt.

9. Haut-reaktiver Faktor (SRF)

Die Injektion von "skin-reactive factor" (SRF) in die Meerschweinchenhaut führt zu Induration, Erythem und Infiltration von mononukleären Zellen - analog einer allergischen Spätreaktion auf Tuberkulin (141, 162, 184). Es stellt sich allerdings heraus, daß nicht alle Lymphozyten in der Lage sind, diesen Faktor zu bilden. So ist es unmöglich, SRF aus Thymus- oder Knochenmarkszellen - nicht einmal unter Verwendung von Mitogenen - freizusetzen (94). Dagegen läßt sich aus

Makrophagen ein SRF-ähnlicher Stoff isolieren, der jedoch eine etwas anders geartete Hautreaktion hervorruft: Das Erythem ist deutlicher, die Induration aber ist geringer als bei der lymphozytären Substanz (122).

Die Eigenschaften von SRF stimmen zum Teil gut mit denen von MIF überein. Von Interesse dürfte sein, daß die SRF-Aktivität durch zwei Plasmafraktionen, eine kationische und eine anionische, um einiges erhöht wird. Sie kann jedoch verschwinden, wenn der Überstand länger als 24 Stunden inkubiert wird. Vermutlich ist das ein Ergebnis der Freisetzung von proteolytischen Enzymen oder eines kationischen Moleküls aus Makrophagenlysosomen (94).

Über zwei Möglichkeiten der SRF-Produktion bei Antigeninjektion wird diskutiert:

- a) SRF wird nur von antigensensibilisierten Lymphozyten gebildet;
- b) SRF wird von unspezifischen Lymphozyten gebildet, die sich in dieser Hautregion aufhalten. Den Anstoß würden dann wahrscheinlich Komplexe aus Antigenen und Antikörpern geben; die Antikörper werden von den sensibilisierten Lymphozyten lokal synthetisiert (122).

In jedem Falle verursacht SRF 20 Minuten nach der Injektion eine erhöhte Gefäßpermeabilität, die etwa 4 Stunden andauert. Diese lange Zeitspanne unterscheidet den Faktor von anderen Mediatoren der Entzündung. Sie mag darauf beruhen, daß SRF durch ein Plasma-substrat wirkt, das sich nur langsam von den Gefäßen zurückzieht. Damit wäre auch die Verstärkung der Reaktion durch Zugabe von Plasmafraktionen zu erklären. Andererseits verursacht SRF eine lokale Anhäufung von Phagozyten und deren Aktivierung, wobei möglicherweise dann sekundäre Mediatoren aus den Makrophagen freigesetzt werden, die nun ihrerseits auf die Gefäße wirken. Bei diesem zweiten Mediator könnte es sich beispielsweise um ein Kinin handeln, da bestimmte Kinininhibitoren hemmende Wirkung auf die SRF-Aktivität besitzen. Die dritte Möglichkeit besteht darin, daß SRF mehrere Faktoren enthält, von denen einer direkte zytotoxische Wirkungen auf Strukturen wie z.B. das Gefäßendothel ausübt (94, 122). Welche der angeführten Theorien der Wahrheit am nächsten kommt, müssen weitere Untersuchungen ergeben.

10. Mitogene oder blastogene Faktoren

In Zellkulturen führt die Antigenstimulation kleiner Lymphozyten zur Transformation in große Lymphoblasten. Mit der Veränderung zeigt die einzelne Zelle eine erhöhte Protein-, DNA- und RNA-Synthese. Die Reaktion als diagnostischer Test ergibt bei einer großen Zahl von Allergien meist gute Ergebnisse (21, 51, 85, 87, 104). Als auslösende Ursache der Transformation werden von verschiedenen Autoren mehrere Faktoren angegeben.

Sicher ist, daß sich nicht sensibilisierte Lymphozyten einer Transformation unterziehen, wenn sie in einem Überstand kultiviert werden, der von spezifisch sensibilisierten und stimulierten Lymphozyten stammt. Die sensibilisierten Zellen setzen vermutlich eine oder mehrere Substanzen frei, die nicht stimulierte Zellen aktivieren; möglicherweise vollzieht sich der Vorgang über einen Rekrutierungsprozeß, der bereits von LAWRENCE im Bezug auf den Transfer-Faktor diskutiert wurde.

Diskussionen und Unstimmigkeiten ergeben sich im Zusammenhang mit diesen Transformations-Faktoren vor allem aus der Beziehung zu Transplantationsantigenen aus Milz- oder anderen Zellen, die Lymphozyten zur Blastentransformation in vitro anregen können. Des weiteren ist momentan schwer abzuschätzen, ob Antikörper in irgendeiner Weise an den blastogenen Effekten der menschlichen Faktoren mitbeteiligt sind. Einige Antikörper werden nämlich zweifelsohne von Lymphozytenkulturen produziert (17). Darüber hinaus vermutet man, daß es zwei aktive Stoffe im Kulturüberstand gibt, einen blastogenen und einen potenzierenden Faktor. Auch hier werden erst die Forschungsergebnisse der Zukunft die Entscheidung für eine Theorie herbeiführen können.

11. Leukotaktischer Faktor

Ein leukotaktischer Faktor wird während der Inkubation von genetisch unterschiedlichen Lymphknotenzellen produziert. Die Untersuchungen gründen sich auf die Feststellung, daß eine entzündliche Reaktion abläuft, wenn eine Mischung aus histoinkompatiblen Zellen in bestrahlte Hamster injiziert wird. Die Zellen, die die Entzündung hervorrufen, sind vorwiegend polymorphkernige Leukozyten, die sich auch

nach der Bestrahlung in ansehnlicher Menge im Kreislauf befinden. Je größer die Histoinkompatibilität zwischen den injizierten Zellen und den Hamstern ist, desto größer ist die Aktivität des leukotaktischen Faktors. Gemische aus Ratten-, Maus- und Hamsterzellen produzieren diesen Faktor, jedoch versagen immuninkompetente Zellen wie z.B. die Thymozyten.

Der Faktor kann im Überstand frühestens 2 Stunden nach Inkubation der Zellen entdeckt werden. Sein Maximum liegt bei 4 bis 8 Stunden. Das Material ist nicht dialysierbar und hitzelabil, weil es nach zwanzigminütiger Inkubation bei 48° C völlig zerstört wird. Da der Stoff sehr früh produziert wird, vermutet man, daß dieser Faktor einen ersten Schritt in der Erkennung fremden Materials darstellt.

12. Interferon-ähnlicher Faktor

Leukozyten und Lymphozyten produzieren Interferon oder einen ähnlichen Virusinhibitor, wenn sie mit verschiedenen viralen Interferonaktivatoren oder einigen nicht viralen, induzierenden Substanzen behandelt werden.

Der entstehende Virusinhibitor hat ähnliche Eigenschaften wie bereits bekannte Interferone. Er ist stabil bei pH 2, wird durch Trypsin inaktiviert, verliert teilweise seine Aktivität nach Erhitzen auf 56° C und vollständig bei 70° C. Er ist nicht sedimentierbar bei 90 000 g und zeigt antivirale Aktivität gegen verschiedene Virusgruppen, scheint aber speziesspezifisch zu sein im Hinblick auf die Zellen der Gewebekultur. Es stellt sich kein Aktivitätsverlust ein, wenn die behandelten Kulturen vor der Virusapplikation gewaschen werden, und es findet sich keine direkte antivirale Aktivität, wenn Virus und Inhibitor für eine Stunde bei 37° C zusammen inkubiert werden. Überraschenderweise ermöglichen auch Lymphozyten, die Interferon nach der Stimulation produzieren, dem Virus die Replikation in der stimulierten Zelle.

Man nimmt an, daß dieses Interferon sich von einigen vorher diskutierten Mediatoren insofern unterscheidet, als die Zugabe von Serum zur Kultur erforderlich ist. Seine Speziesspezifität ist ein weiteres Unterscheidungsmerkmal. Da die Substanz erst nach 4 Tagen aufzufinden

ist, wird sie wahrscheinlich später als alle anderen Mediatoren gebildet. Genau wie die Spezies-eigenheit kann dies auch nur eine Abhängigkeit von den unterschiedlichen Zellkonzentrationen sein, die für die Produktion verwendet werden (21).

13. Lymph node permeability factor (LNPF)

Dieser Faktor ist ein membranfreier Extrakt, der in Lymphknoten-zellen, aber auch in Zellen anderer Organe wie Milz oder Leber verschiedener Spezies nachgewiesen wurde. Angereichert ist er in mononukleären Zellen spätallergischer Tiere, in Hautstellen mit einer Tuberkulinreaktion oder mit einer DNCB-Kontaktallergie und in der Synovialflüssigkeit von Patienten mit rheumatoider Arthritis (31, 172). Bei Fraktionierung von Leberzellen findet sich die Aktivität in allen Fraktionen einschließlich des Kerns, der Mikrosomen, der Mitochondrien und des Zellsafts (17).

Die funktionellen Kriterien des LNPF sind die Erhöhung der Gefäß-permeabilität für Proteine, die Emigration von vornehmlich polymorphkernigen Leukozyten 45 Minuten bzw. von mononukleären Zellen 24 Stunden nach intrakutaner Injektion sowie die Ablagerung von eosinophilem, fibrinoid-ähnlichem Material. Die Injektion von LNPF bewirkt also histologisch die Imitation einer allergischen Spätreaktion auch in Abwesenheit eines speziellen immunologischen Systems (31, 172).

Werden neugeborene Ratten mit LNPF behandelt, reagieren sie später weder auf intradermale Injektionen von LNPF noch sind sie fähig, Symptome einer Spätyp-Allergie zu entwickeln (172).

Untersuchungen von Hauthistamin bei Meerschweinchen nach intraderma-ler LNPF-Injektion zeigen einen deutlichen Anstieg nach 24 und 48 Stunden. Die Erhöhung gleicht der von Histamin während der spätallergischen Reaktionen. Die Wirkung von LNPF mag durch einen verminderten Abbau oder eine erhöhte Produktion von Histamin zustande kommen. Die letzte Möglichkeit wird untermauert durch erhöhte Histidin-dekarboxylase-Aktivität, die bei allergischen Spätreaktionen gefunden wird (150), während die Leucinaminopeptidase keine Veränderungen zeigt (95). Jedoch kann auch eine Auswanderung von Basophilen den erhöhten Histamingehalt der Haut erklären, da diese reich

an Histamin sind (16, 62), das charakteristische Zellexsudat bei Spättyp-Reaktionen darstellen und im Hautfenster nach LNPF-Injektionen gefunden werden (181).

Die stoffliche Natur des LNPF ist noch nicht bekannt, doch ist der Faktor in den Zellextrakten mit makromolekularem Material assoziiert. Es wird angenommen, daß der aus Zellen freigesetzte Faktor vornehmlich Komplexe mit Albumin, weniger mit Gammaglobulin bildet. Auch nach der Bindung an das Plasmaprotein behält er seine biologische Aktivität, verändert aber nicht die physikalischen Eigenschaften des Proteins, das sich demnach elektrophoretisch normal verhält. Das weist darauf hin, daß der LNPF ein geringes Molekulargewicht und keine elektrische Ladung besitzt (31, 172).

Die Substanz ist nicht dialysierbar und verliert nur die Hälfte ihrer Aktivität bei Präzipitation mit 66%igem Ammoniumsulfat. Sie ist über Wochen stabil bei 4° C und für 30 min bei Erhitzen auf 56° C, aber ihre Aktivität wird nach zweistündiger Inkubation bei 37° C reduziert. Der Faktor widersteht DNase, RNase und verschiedenen proteolytischen Enzymen wie Trypsin, Chymotrypsin und Papain. Zum Teil wird die Aktivität durch Behandlung mit diesen Enzymen sogar erhöht. Pronase zerstört jedoch gelegentlich den Stoff. Die Größe und die Beständigkeit gegen Hitze und proteolytische Enzyme unterscheiden LNPF von MIF und vielen anderen Faktoren (17).

Man nimmt an, daß der Faktor als natürlicher Zellbestandteil durch eine Zellzerstörung, wie bei der Herstellung von Zellextrakten, durch antigene Stimulierung der Zellen, wie bei spätallergischen Reaktionen, oder durch den natürlichen Zelltod freigesetzt wird, um dann als Permeabilitätsfaktor zu wirken. Den "sessilen antigenbindenden Strukturen", die keine unmittelbare Bedeutung für eine allergische Spätreaktion zu haben scheinen, käme dabei eine Triggerfunktion zur Freisetzung von Mediatorsubstanzen zu (31).

14. Weitere Mediatoren

Wie schon bei den Soforttyp-Reaktionen werden auch hier von mehreren Autoren zusätzliche Faktoren beschrieben, die zum Teil nur durch ihre biologische Aktivität oder andere Versuchsbedingungen zu unterscheiden und möglicherweise mit den oben aufgezählten Substanzen

identisch sind. Als Beispiele können eine "smooth-muscle-contracting activity" (SMCA), die von den Autoren in eine eventuelle Beziehung zu den Prostaglandinen gebracht wird (36, 147), und ein Thrombozyten-aggregierender Faktor (21) genannt werden.

15. Zusammenfassung

Aufgrund der geschilderten Untersuchungen stellt sich die unspezifische oder 2. Phase der allergischen Spättyp-Reaktion etwa folgendermaßen dar (92):

Ein inflammatorischer Faktor stellt die Gefäße weit und macht die weißen Blutzellen wandständig; ein chemotaktischer Faktor attrahiert mononukleäre Zellen aus den umliegenden Gefäßen ins Gewebe, während der migrationsinhibierende Faktor sie dort zur Akkumulation bringt. Ein mitogener Faktor aktiviert ihre DNA-, RNA- und Proteinsynthese und ein zytotoxischer Faktor befähigt die Infiltratzellen zur komplementunabhängigen "Zielzellzerstörung", wie sie besonders eindrucksvoll bei der Transplantatabstoßung, aber auch beim allergischen Kontaktekzem in den Spongioseherden der Epidermis zu beobachten ist. Ein weiterer Faktor aktiviert die regionären Lymphknoten, die ihre T-Zellenreserve in der parakortikalen Zone mobilisieren; ein anderer erhöht die phagozytotische Aktivität der Makrophagen. Auf diese Weise baut sich ein katalytisch gesteuerter, zur Gewebsauflösung führender Prozeß auf, der klinisch als chronische Entzündung imponiert und zur digestiven Elimination des Antigens führt. Der dabei zwangsläufig entstehende Gewebsschaden wird durch Regeneration oder Narbenbildung repariert (91).

V. Eigene Untersuchungen

1. Material und Methoden

1.1. Wahl des Versuchstieres

Zur Erzeugung einer toxischen Dermatitis wurden 10 männliche und 20 weibliche Albinomeerschweinchen (Pirbright) ausgewählt, deren Gewicht bei Beginn der Versuchsreihe jeweils etwa 300 bis 350 g betrug. Dieses Gewicht gewährleistet ein völlig entwickeltes Immunsystem (26, 28, 31, 107). Dazu wurden jeweils 5 männliche und 5 weibliche Versuchstiere als Kontrollgruppe benutzt.

Zur epikutanen Sensibilisierung und peroralen Desensibilisierung mit DNCB fanden 40 weibliche Meerschweinchen Verwendung, von denen 4 im Verlauf des Versuches starben. Alle Tiere hatten etwa das gleiche Gewicht.

1.2. Haltung und Kennzeichnung der Tiere

Je 5 Tiere wurden in einem Käfig gehalten und erhielten die übliche Meerschweinchennahrung sowie Wasser ad libitum. Zur Erkennung wurden sie an verschiedenen Körperstellen rasiert. Diese Art der Kennzeichnung erschien zweckmäßig, da die Inhaltsstoffe der üblichen Dermatographen möglicherweise allergisierende Gruppen enthalten, die dann zu einem Anstieg der azurgranulierten Lymphozyten geführt hätten, der nicht auf dem im Versuch gesetzten toxischen oder allergisierenden Reiz basiert hätte. Die Markierung war etwa alle 10 Tage zu erneuern. Die Tiere wurden ferner alle 3 Tage mit einer Säuglingswaage gewogen, um bei Gewichtsverlust ein unspezifisches Anzeichen für eine etwaige nicht sichtbare Erkrankung zu haben.

1.3. Entfernung der Behaarung

Die Behaarung an beiden Flanken der Tiere wurde mit einer Schermaschine, Marke "Äskulap Elektra" (1/20 mm), auf einer rechteckigen Fläche von etwa 7 cm mal 6 cm entfernt. Da sich in Vorversuchen gezeigt hatte, daß nur die völlig nackte Haut der Tiere gut auf die verschiedenen toxischen Reize und das DNCB ansprach, wurden die kurzen Haarstopfel mit einem Trockenrasiergerät der Marke "Braun Sixtant" entfernt. Eine mechanische Hautirritation wurde sorgfältig

vermieden. Dieser Methode war der Vorzug vor der chemischen Epilation zu geben, da sie sich als deutlich schonender erwies (78).

1.4. Toxische Reize

1.4.1. Kohlensäureschnee

Beim verwendeten Kohlensäureschnee handelte es sich um eine industriell hergestellte und in Stahlflaschen erhältliche Substanz.

Da Vorversuche gezeigt hatten, daß die Hautreaktion nicht nur von der Einwirkungszeit des Schnees abhing, sondern in gleichem Maße vom Druck, mit dem er auf die Haut aufgebracht wurde, mußte eine Methode entwickelt werden, die in etwa gleiche Bedingungen für die einzelnen Versuchstiere schuf. Dazu diente folgendes selbstgefertigte Gerät: 6 normale Reagenzgläser von 11 cm Länge wurden jeweils bis auf 1 cm mit Wachs gefüllt und zu einem Rechteck angeordnet, das Seitenlängen von 5 cm und 3,5 cm aufwies. In den leer gebliebenen Teil der Reagenzgläser wurde nun der Kohlensäureschnee eingefüllt. Das Gerät wog 190 g und gewährleistete damit einen reproduzierbaren Druck beim Aufsetzen auf die Tierhaut.

1.4.2. UV-Bestrahlung

Zur Bestrahlung der Tiere wurde die Kromayer-Lampe verwendet. Bei dem Gerät brennt zwischen festen Glühelktroden ein Quecksilberhochdruckbogen. Das Entladungsgefäß ist in ein geschlossenes Metallgehäuse eingebaut, das vorn ein Strahlenaustrittsfenster besitzt. Dieses wird durch fließendes Wasser gekühlt, so daß die Kromayer-Lampe unmittelbar auf die zu bestrahlende Körperstelle aufgesetzt werden kann. So konnten immer gleich große Hautflächen ohne schwierige und meist unzureichende Abdeckungen bestrahlt werden (164).

An dieser Stelle sei Herrn Privatdozent Dr. Flewig und Frau Mosch für die Bereitstellung der Lampe herzlich gedankt.

1.4.3. Trichloressigsäure

Da Substanzen, die Proteinstrukturen intensiv verändern, als Sensibilisierungsmittel kaum geeignet sind (133), und außerdem geklärt werden konnte, daß Trichloressigsäure keine allergene Komponente aufweist (4), fiel die Wahl zur Erzeugung einer toxischen Dermatitis

chemischen Charakters auf diesen Stoff.

In Vorversuchen konnte ermittelt werden, daß ein toxischer Hautschaden mit einer Konzentration von 20 % immer zu erreichen ist. Sie wurde durch Lösen einer entsprechenden Menge von Trichloressigsäurekristallen in Aqua destillata hergestellt.

1.5. Allergen

Verwendung fand das pulverförmige 2,4-Dinitrochlorbenzol der Firma Merck, Darmstadt.

Für die epikutane Sensibilisierung wurde, entgegen der üblichen Lösung des Allergens in Azeton oder Alkohol, das DNCB in Olivenöl gelöst und in Eucerinum anhydricum eingerührt (73). Damit erhielt man eine Salbe mit genau berechneter DNCB-Konzentration, die auch gut lokalisierbar aufzutragen war.

Zur Sensibilisierung wurde grundsätzlich eine 0,5%ige DNCB-Salbe, für die Auslösung und den Booster-Effekt eine 0,1%ige Salbe benutzt.

Zur Verfütterung wurde das DNCB in 98%igem Alkohol gelöst und der Meerschweinchenmahrung beigemischt; anschließend wurde der Alkohol wieder verdampft (72).

1.6. Blutentnahme

Das Blut für die Ausstriche wurde den Ohren der Meerschweinchen entnommen. Um eine Infektion der Tiere durch unsteriles Arbeiten zu vermeiden, was zu einem Anstieg der azurophilen Granula hätte führen können, wurde unter möglichst sterilen Kautelen gearbeitet. Das Ohr des Tieres wurde vor der Blutentnahme mit 50%igem Isopropylalkohol desinfiziert. Das Anstechen der Ohrvene erfolgte mit einer sterilen Hämostilette, die Blutabnahme mit einer Pasteurpipette für einmaligen Gebrauch. Anschließend wurde das Ohr bis zur Hämostase mit Isopropylalkohol betupft. Mechanische Manipulationen am Ohr des Tieres wurden weitgehendst vermieden. Diese Art der Blutentnahme erwies sich für die Meerschweinchen als besonders schonend.

Da GLEISS (32) bereits darauf hinwies, daß kein Unterschied zwischen azurgranulierten Lymphozyten in peripherem und venösem Blut besteht, und KOLIMANN (78) im Vergleich von arteriellem Herzblut zu venösem Ohrblut dieselbe Feststellung traf, konnte auf die Gewinnung von

Blut mit Hilfe der Herzpunktion verzichtet werden. Damit war die Gefahr des Sekundenherztodes umgangen, zumal die Meerschweinchen die Punktion des linken Ventrikels erwiesenermaßen schlechter überstehen als die des rechten Herzens. Auch andere Möglichkeiten der Blutentnahme zeigten gegenüber der angewandten Methode eher Nachteile.

1.7. Anfertigung der Blutaussstriche

Die Anfertigung der Blutaussstriche geschah nach der üblichen Labortechnik. Da für eine exakte Auswertung ein nicht zu dicker Ausstrich zwingend erforderlich war, mußte die entsprechende Technik erst erlernt und geübt werden.

Die so gewonnenen Präparate wurden luftgetrocknet und nach MAY-GRÜNWARD-GIEMSA gefärbt. Um möglichst frische, niederschlagsfreie Färbelösungen zu haben, wurden diese Lösungen alle 5 Tage erneuert. Die Färbezeiten waren kürzer als bei der üblichen Blutbilddifferenzierung; es wurde mit MAY-GRÜNWARDscher Lösung 5 Minuten lang fixiert und dann mit GIEMSA-Lösung durchschnittlich 18 Minuten gefärbt. Zeigte es sich, daß die Präparate zu schwach gefärbt waren, konnten weitere 3 Minuten zugegeben werden. Umgekehrt wurden zu dunkle Präparate 3 Minuten lang mit Phosphatpuffer vom pH 6,3 ($\frac{1}{15}$ M) entfärbt. Die Qualität der Ausstriche war damit immer annähernd gleich gut. Die Lymphozytenkerne sind bei diesen Färbezeiten nämlich noch relativ blaß und verdecken nicht die roten Lysosomen.

1.8. Mikroskopische Untersuchung

Zur Auszählung diente ein Zeissmikroskop mit 1000facher Vergrößerung (Ölimmersion). Gezählt wurde im einfachen Blindversuch, bei dem der Auszählende nie wußte, welcher Blutaussstrich welchem Tier zugeordnet war. Damit war eine optimale objektive Bewertung möglich (87).

In jedem Ausstrich wurden 100 Lymphozyten ausgezählt; die Zahl der darunter befindlichen azurgranulierten wurde dazu in Beziehung gesetzt, so daß sich ein Prozentsatz ergab, der für den jeweiligen Ausstrich als repräsentativ gelten durfte. Von einer Auszählung von 200 Lymphozyten bei Präparaten, die einen deutlichen Unterschied zum Vortag aufwiesen (78), wurde Abstand genommen, da es sich hierbei

um eine Methodenänderung gehandelt hätte, die statistisch nicht haltbar wäre. Um jedoch Fehler zu vermeiden, die aufgrund Ermüdungserscheinungen hätten auftreten können, wurden höchstens 15 Ausstriche auf einmal beurteilt.

Bei der Auszählung wurde keine Unterteilung in große und kleine Lymphozyten vorgenommen, obwohl sich die azurophilen Granula vor allem in den großen Lymphozyten finden (Abb. I). Da sie aber auch relativ häufig in den kleinen zu finden waren, konnte diese Unterscheidung entfallen. Dagegen wurde deutlich differenziert zwischen großen Lymphozyten und Monozyten. Beide Zellarten enthalten azurophile Granula, können jedoch aufgrund ihrer morphologischen Unterschiede gegeneinander abgegrenzt werden. Die Monozyten sind mit graublauem Zytoplasma ausgestattet und haben meist einen eingebuchteten oder gelappten, häufig unregelmäßig geformten Kern. Die Lymphozyten besitzen ein mittelblaues Plasma und einen runden, oft aber auch an einer Seite eingedellten Kern, der zum Teil eine ange deutete bohnenförmige Struktur aufweist (61).



Abb. I: azurogranulierter (a) und normaler (b) Lymphozyt

1.9. Die einzelnen Versuchsreihen

Die 80 Versuchstiere wurden in 8 Gruppen zu je 10 Tieren eingeteilt. Dabei entfielen auf die Kontrollgruppe, wie bereits erwähnt, 5 männliche und 5 weibliche Tiere. Die Kohlensäureschnee-Gruppe enthielt die 10 Männchen, so daß für die UV-Gruppe, die Trichloressigsäure-Gruppe und die DNCB-Gruppen jeweils 10 Weibchen übrigblieben.

1. Versuchsreihe: Kontrollgruppe

Nach entsprechenden Vorbereitungen (Kennzeichnung usw.) wurde täglich die Zahl der azurgranulierten Lymphozyten auf 100 Lymphozyten bestimmt. Dieses Vorgehen war auch 8 Tage lang bei allen toxischen Gruppen gleich. Am 9. Tag wurden 2 männliche und 3 weibliche Tiere nach der oben angegebenen Methode geschoren. Das sollte etwaige Veränderungen des lymphozytären Blutbilds aufdecken, die auf die Rasur zurückzuführen wären. Die übrigen 5 Tiere blieben unbehandelt; sie sollten die normale Schwankungsbreite der azurgranulierten Lymphozyten aufzeigen.

Die Ausstriche der gesamten Gruppe wurden dann weitere 16 Tage lang auf den Gehalt an azurgranulierten Lymphozyten untersucht, um eine genügend große Anzahl an Meßdaten von Tieren ohne bzw. mit Placebobehandlung zu erhalten.

2. Versuchsreihe: Kohlensäureschnee-Gruppe

Diesen Meerschweinchen wurde am 9. Tag, der unten als Tag 0 gekennzeichnet ist, durch Aufdrücken von Kohlensäureschnee auf beide Flanken eine Erfrierung unterschiedlichen Ausmaßes zugefügt. Mit dem oben beschriebenen Gerät konnte der Unsicherheitsfaktor "Druck", der zu einer schwierigen Reproduzierbarkeit des Versuches geführt hätte, eliminiert werden: die Tiere erhielten nur das Gewicht der 6 wachsgefüllten Reagenzgläser als Auflage. Damit waren nur noch die Zeit, die zwischen 6 und 10 Sekunden betrug, und die individuelle Konstitution der Tiere, die bei Erfrierungen eine wesentlich größere Rolle spielt als bei Verbrennungen, für die Hautreaktion von ausschlaggebender Bedeutung (186).

3. Versuchsreihe: UV-Gruppe

Am Tag 0 wurden die Flanken dieser Versuchstiere jeweils 2 Minuten lang mit der Krohmayer-Lampe bestrahlt. Dabei wurde die Lichtquelle nur leicht auf die Hautstelle aufgesetzt und nicht aufgedrückt, um eine Tiefenwirkung zu verhindern.

Vorversuche hatten hier gezeigt, daß bei Meerschweinchen die lange Einwirkungsdauer von 2 Minuten unbedingt nötig war, da die beim Menschen üblichen 5 bis 10 Sekunden bei diesen Tieren keine sichere Hautreaktion verursacht hatten.

4. Versuchsreihe: Trichloressigsäure-Gruppe

Mit der bereits beschriebenen 20%igen Lösung wurden Papiertaschentücher in der Größe von 5,5 cm mal 4,5 cm getränkt, den Tieren am Tag 0 - nach Reinigung der Haut mit 50%igem Isopropylalkohol - auf die Flanken gedrückt und dort mit Heftpflaster der Marke "Leuko-silk" für genau 30 Minuten fixiert. Dieses Heftpflaster bot sich wegen seiner großen Hautfreundlichkeit und der geringen allergenen Wirkung an (76). In Vorversuchen hatte sich außerdem gezeigt, daß die azurgranulierten Lymphozyten in keiner Weise auf das aufgeklebte Pflaster reagierten. Gleichzeitig konnte durch die geschilderte Methode erreicht werden, daß die Säure wirklich in die Haut aufgenommen und nicht von den Tieren abgeschleckt wurde, was bei einem bloßen Auftupfen der Substanz zu beobachten war. Der "Genuß" der Säure führte bei den entsprechenden Tieren zu einer starken Abmagerung, die möglicherweise auf eine Verätzung innerer Organe hinwies.

Allen Versuchstieren wurde dann täglich Blut aus der Ohrvene entnommen und in einem Ausstrich auf azurgranulierte Lymphozyten untersucht. Da sich bei früheren Untersuchungen (78) bereits 7 Tage nach Beginn der DNCB-Sensibilisierung bei den Tieren ein Anstieg der azurgranulierten Lymphozyten angebahnt hatte, was der allgemeinen Auffassung entspricht, daß die Allergie vom Spättyp mit einer Latenz von durchschnittlich 10 Tagen reagiert, konnte die Blutentnahme nach 16 Tagen eingestellt werden, weil dann keine Zellreaktion mehr zu erwarten war, zumal sich die Hautreaktion größtenteils schon zurückgebildet hatte. So wurde jede der 4 Versuchsreihen - bei täglicher Kontrolle der Ausstriche - nach 16 Tagen abgebrochen.

Eine Doppelerposition wurde nicht vorgenommen (140), da die Tiere bereits durch den Erstkontakt mit dem toxischen Stoff im Durchschnitt 14,7 g innerhalb von 24 Stunden abgenommen hatten. Das waren 3,5 % des Ausgangsgewichtes am Tag 0. Wenn die Tiere den Zweitkontakt innerhalb von 8 Tagen nicht überlebt hätten, wäre die gesamte Versuchsanordnung gefährdet gewesen.

5. Versuchsreihe: Testung und Booster-Effekt DNCB-sensibilisierter Tiere

Nach der üblichen Kennzeichnung wurde den unbehandelten Tieren 4 Tage lang Blut entnommen und untersucht. Dann wurden sie mit 0,5%iger DNCB-Salbe sensibilisiert, die für 48 Stunden mit Hilfe von "Al-Test Patches" auf die linke Flanke aufgetragen wurde. Zur besseren Fixierung wurden die Flanken der Tiere noch mit einigen Touren "Leukosilk" und "Leukoplast" umwickelt (72).

16 Tage nach Beginn der Sensibilisierungsphase wurde bei den Tieren durch 48stündige Auflage einer 0,1%igen DNCB-Salbe auf der rechten Flanke die allergische Reaktion ausgelöst bzw. getestet. Dasselbe Verfahren wiederholte sich weitere 29 Tage später und führte nunmehr den Booster-Effekt herbei.

Bis 5 Tage nach der Auslösung wurde diesen Tieren täglich Blut entnommen. Dann folgte eine Pause bis 3 Tage vor Beginn des Boosters. Ab dann wurden wieder täglich bis 5 Tage nach Booster-Beginn Ausstriche angefertigt. Damit konnte sichergestellt werden, daß die für die Sensibilisierung und Auslösung wichtigen Zeiträume erfaßt wurden.

6. Versuchsreihe: Fütterung sensibilisierter Tiere mit DNCB

Diese Tiere wurden in gleicher Weise wie die Gruppe der 5. Versuchsreihe behandelt und nach 16 Tagen getestet. Nach der Pflasterabnahme erhielten sie jedoch 16 Tage lang das mit DNCB vermischte Futter. Daraufhin wurde erneut ein Auslöseversuch mit 0,1 % DNCB unternommen.

Da es sich bereits bei der Gruppe V gezeigt hatte, daß die azurgranulierten Lymphozyten nicht so rasch auf die DNCB-Applikation reagierten, konnte auf eine längere Beobachtung der unbehandelten Tiere verzichtet werden. Die Blutaussstriche wurden daher an folgenden Tagen angefertigt:

ein Tag vor Versuchsbeginn, an den ersten 4 Tagen sowie am 7., 10., 13. und 16. Tag der Sensibilisierungsphase, ferner am 1., 4., 7., 10., 13. und 16. Tag der Fütterungsperiode und am 3. bis 5. Tag nach Beginn der Auslösephase.

7. Versuchsreihe: Fütterung nicht sensibilisierter Tiere mit DNCB

Vor Beginn der Behandlung wurden von diesen Tieren an 4 Tagen Blutaussstriche gewonnen. Sie wurden dann 16 Tage lang mit DNCB-Futter ernährt, anschließend in der bekannten Weise mit 0,5 % DNCB epikutant sensibilisiert und mit 0,1 % DNCB getestet.

Die Blutaussstriche erfolgten am 1., 4., 7., 10., 13. und 16. Tag der Fütterungsphase, am 1., 3., 4., 7., 10., 13. und 16. Tag der Sensibilisierung sowie am 3. bis 5. Tag der Testung.

8. Versuchsreihe: gleichzeitige DNCB-Sensibilisierung und - Fütterung

Diese Tiere erhielten nach 4 Tagen, an denen die Normalwerte ermittelt wurden, gleichzeitig mit dem sensibilisierenden Pflaster die DNCB-Nahrung. Nach 16 Tagen wurden auch sie getestet.

Die azurgranulierten Lymphozyten wurden am 1., 2., 4., 7., 10., 13. und 16. Tag der gemeinsamen Phase sowie am 3. bis 5. Tag der Testperiode ausgezählt.

1.10. Auswertung

Die Ergebnisse der einzelnen Versuchsreihen wurden tabellarisch zusammengestellt. In diesen Tabellen sind auch der Mittelwert des jeweiligen Tages, die dazugehörige Standardabweichung und der sogenannte mittlere Fehler, d.h. die Standardabweichung des Mittelwertes, aufgeführt.

Daneben wurden Mittelwert und mittlerer Fehler der einzelnen Gruppen graphisch dargestellt.

Die x-Achse entspricht dabei den fortlaufenden Versuchstagen; die Tage, an denen die Normalwerte ermittelt wurden, sind bei den toxischen Gruppen und bei der Kontrollgruppe als Zahlen mit negativem Vorzeichen dargestellt, bei den DNCB-Gruppen tragen sie den

Buchstaben "N". Die Tage nach Behandlung tragen bei den toxischen Gruppen positive Vorzeichen; bei den DNCB-Gruppen bedeutet "S" die Sensibilisierungsphase, "F" die Fütterungszeit, "T" die Testphase und "B" die Booster-Periode. Ferner wurden bei den toxischen Versuchsreihen und bei der Kontrollgruppe der Tag 0 und bei den DNCB-Reihen jeweils der erste Tag der Sensibilisierungs-, Fütterungs-, Testungs- und Boosterungsphase als Hilfslinien eingezeichnet.

Die y-Achse gibt die Prozentzahl der ermittelten azurgranulierten Lymphozyten an. Dabei markiert eine Hilfslinie den normalen Höchst-satz von 15 %, so daß eine Überschreitung deutlich erkennbar ist. Da die Angaben über die normalen Prozentzahlen an Lymphozyten mit azurophilen Granula beträchtlich schwanken - zwischen 5 und 20 % (32, 61) -, wurde ein durchschnittlicher Maximalwert von 15 % angenommen und der Graphik zugrunde gelegt. Dieser Wert darf aber als relativ hochgegriffen angesehen werden, weil eigene orientierende Untersuchungen an 625 Ausstrichen einen Mittelwert von 9,46 % ergaben, und dieses Ergebnis nur einen mittleren Fehler von 0,20 % aufweist.

Zur besseren Unterscheidung der einzelnen Behandlungsarten wurden folgende Schraffierungsmuster gewählt:



Normalwerte



toxische Reaktionen



Sensibilisierung



Fütterung



Fütterung und Sensibilisierung



Auslösung bzw. Testung



Booster-Effekt

2. Ergebnisse

2.1. Gruppe I

2.1.1. Hautreaktionen

Wie bereits beschrieben, wurden die Meerschweinchen Nr. 1 bis Nr. 5 am Tag 0 rasiert. Da die Rasur immer sehr vorsichtig durchgeführt wurde, zeigten die Tiere makroskopisch nur geringe Reaktionen (Abb. II), während sich das histologische Bild völlig normal darstellt (Abb. III).

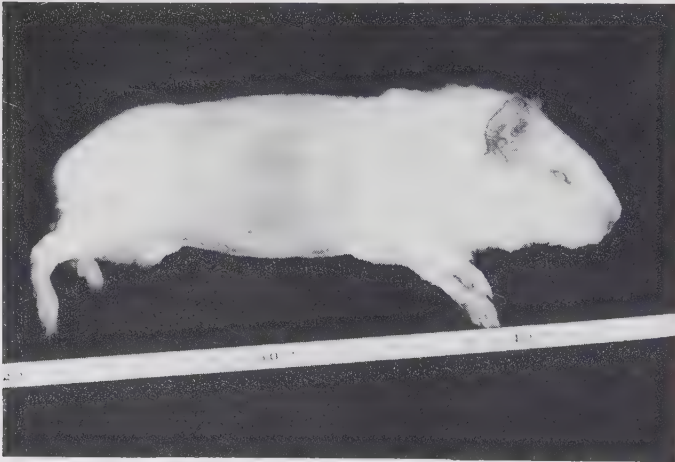


Abb.II: Hautreaktion nach Rasur

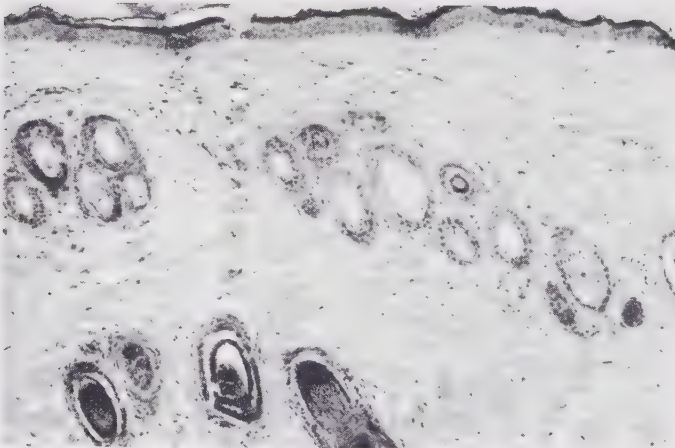


Abb.III: normale Meerschweinchenhaut

2.1.2. Azurgranulierte Lymphozyten

a) Einzelergebnisse (Tab. 1)

Da sich die Ergebnisse der Lymphozytenauszählung der Tiere Nr. 1 mit Nr. 5 statistisch nicht von denen der Tiere Nr. 6 mit Nr. 10 unterschieden, konnten beide Untergruppen gemeinsam dargestellt werden und dienen als Grundlage der natürlichen Streubreite der azurgranulierten Lymphozyten. Gleichzeitig wurde damit der Beweis erbracht, daß die geschilderte Rasur keinen Einfluß auf das Blutbild der Tiere hatte.

Den höchsten Wert dieser Versuchsreihe erreicht das Tier Nr. 6 an den Tagen - 8 und + 4 mit jeweils 18 % azurgranulierten Lymphozyten, den niedrigsten Wert erzielen die Tiere Nr. 2, 5 und 8 mit je 2 % an verschiedenen Tagen. Die größte Differenz mit 13 % an verschiedenen Tagen besteht bei Tier Nr. 4; die größte Differenz mit 10 % an zwei aufeinanderfolgenden Tagen (+ 9 und + 10) erreicht das Tier Nr. 5.

Tage	Tiere										Mittelwert	Standardabweichung	mittlerer Fehler
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
- 8	11	3	6	12	5	18	6	8	14	16	9,90	5,07	1,60
- 7	8	4	7	8	14	12	9	11	6	11	9,00	3,02	0,95
- 6	10	2	11	14	12	12	5	9	14	14	10,30	4,03	1,27
- 5	13	9	9	11	14	16	14	4	12	12	11,40	3,41	1,08
- 4	9	4	8	7	9	7	9	7	15	11	8,60	2,91	0,92
- 3	15	5	7	4	8	10	15	5	6	8	8,30	3,95	1,25
- 2	7	3	11	7	10	6	9	4	9	12	7,80	2,94	0,93
- 1	7	6	5	4	10	12	6	3	5	14	7,20	3,61	1,14
0	8	4	4	4	8	13	13	4	8	15	8,10	4,25	1,35
+ 1	15	11	4	11	14	10	7	6	9	14	10,10	3,67	1,16
+ 2	13	6	6	6	10	17	15	4	6	11	9,40	4,48	1,42
+ 3	11	3	9	15	11	14	12	3	6	10	9,40	4,20	1,33
+ 4	9	7	7	13	2	18	13	6	9	4	8,80	4,76	1,50
+ 5	12	2	6	5	6	12	14	5	8	4	7,40	3,98	1,26
+ 6	12	5	9	4	2	16	9	2	6	9	7,40	4,48	1,42
+ 7	14	9	12	5	8	14	16	2	3	14	9,70	5,06	1,60
+ 8	9	4	10	7	3	12	15	5	4	9	7,80	3,91	1,24
+ 9	13	3	5	10	3	15	15	4	7	5	8,00	4,85	1,53
+ 10	14	12	12	17	13	13	14	5	10	4	11,40	4,06	1,28
+ 11	9	8	11	14	5	8	15	3	8	8	8,90	3,67	1,16
+ 12	14	3	8	10	6	11	11	4	6	14	8,70	3,92	1,24
+ 13	10	3	6	10	8	9	7	2	5	9	6,90	2,85	0,90
+ 14	13	4	8	13	3	16	10	8	4	7	8,60	4,38	1,38
+ 15	13	9	11	12	6	7	10	3	4	6	8,10	3,41	1,08
+ 16	12	6	6	10	3	13	13	7	5	13	8,80	3,82	1,21

Tab. 1

b) Mittelwerte (Abb. IV)

Die Kurve der Mittelwerte zeigt jedoch, daß sich die eben erwähnten, relativ großen Schwankungsbreiten innerhalb der Gruppe ziemlich gut ausgleichen. Sie ändert sich nur relativ geringfügig um den Wert von etwa 8,8 %; das liegt noch etwas unter dem selbst ermittelten Durchschnittswert von 9,46 %. Den höchsten Tagesmittelwert finden wir an den Tagen - 5 und + 10 mit jeweils 11,4 %, den niedrigsten am Tag + 13 mit 6,9 %.

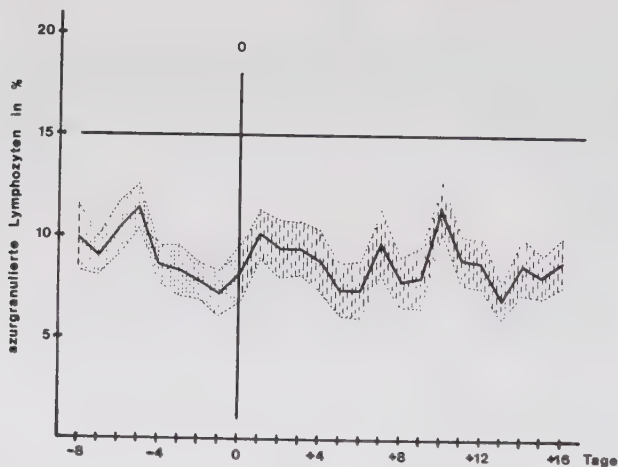


Abb. IV

2.2. Gruppe II

2.2.1. Hautreaktionen (Tab. 2)

Die Tiere dieser Gruppe wurden unterschiedlich lang mit Kohlen-säureschnee behandelt: je 6 Sekunden lang die Nr. 2, 7 und 8, je 8 Sekunden lang die Nr. 1, 3, 4, 5 und 6 und je 10 Sekunden lang die Nr. 9 und 10. Die Zeitdauer war jedoch für die Schwere der Reaktion nicht verantwortlich, wie Tabelle 2 zeigt. Außerdem läßt sich darin die Größe der behandelten Hautfläche - prozentual zur gesamten Hautfläche - erkennen, eine Größe, die bei toxischen Stoffen von ausschlaggebender Bedeutung ist (23, 56).

	T i e r e									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Behandelte Hautfläche in %	7,7	11,4	10,3	10,2	12,8	10,3	11,7	11,0	10,8	10,5
Stärke der Hautreaktion	+++	++	++++	++	++	++	++	++++	++++	++++
<u>Erläuterung:</u>										
+ ≙ Erythem mit leichter Schwellung; keine Narben										
++ ≙ blaurotes Erythem mit nicht eindrückbarem Ödem; keine Narben										
+++ ≙ derbe, blasige Abhebung der Haut; narbige Abheilung										
++++ ≙ dunkelblauroter Blaseninhalt; narbige Abheilung										
+++++ ≙ Nekrose mit blauschwarzem Blaseninhalt; narbige Abheilung										

Tab. 2

Die gesamte Hautfläche eines Tieres steht in ziemlich genauer Relation zum Gewicht des Tieres; dies konnte festgestellt werden, als einigen Meerschweinchen das Fell in toto abgezogen und planimetriert wurde.

Die Angaben über die Stärke der Hautreaktionen richten sich nach den in der Literatur (66, 186) angegebenen Kriterien für Erfrierungen, bedienen sich jedoch nicht der üblichen Einteilung in drei Grade, da mehrere Tiere Zwischenstufen aufwiesen, die berücksichtigt werden mußten. Angegeben ist hier- wie bei allen Gruppen - die Reaktion nach 24 Stunden. Ihr Verlauf wurde aber auch als Bemerkungen über die Narbenbildung angefügt (8).

Eine typische Reaktion (++) zeigt die Abbildung V. Den dazugehörigen histologischen Befund liefern Abbildung VI und VII mit stark zerstörter Epidermis, stark erweiterten Gefäßen, perivaskulären, meist lymphozytären Infiltraten und entsprechend deutlicher Ödematisierung des Bindegewebes.

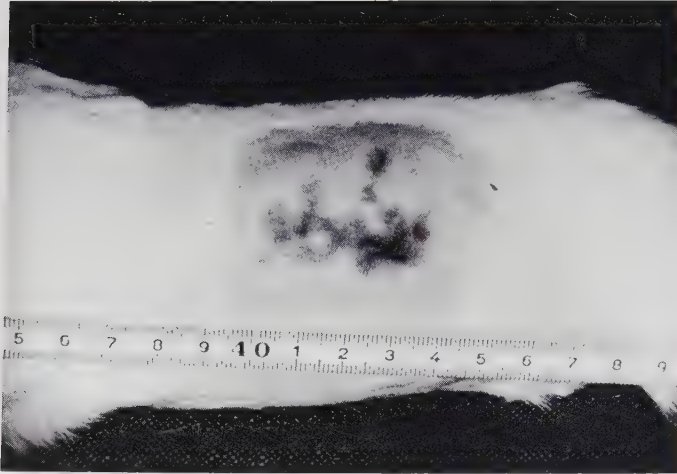


Abb.V: Hautschädigung durch Kohlensäureschnee

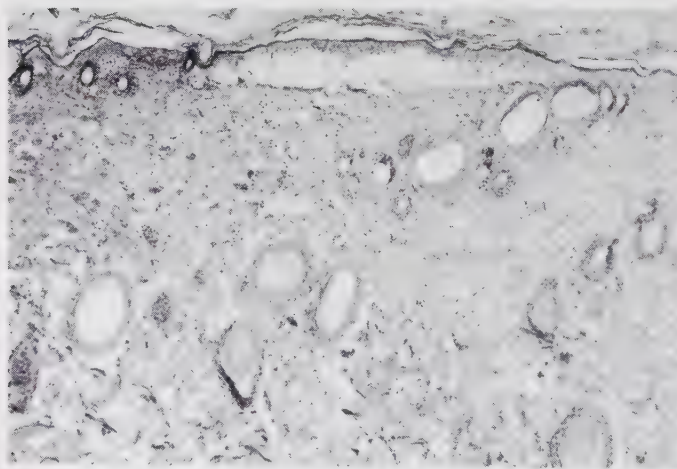


Abb.VI: histologisches Bild der Hautschädigung

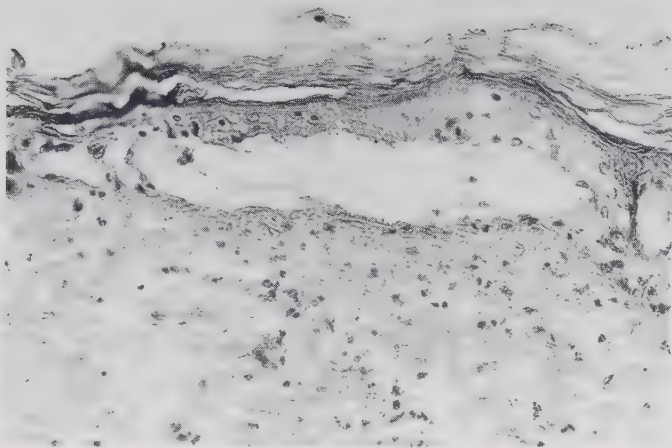


Abb.VII: epidermale Teilansicht

2.2.2. Azurgranulierte Lymphozyten

a) Einzelergebnisse (Tab. 3)

Bei den Meerschweinchen dieser Versuchsreihe verhalten sich die azurgranulierten Lymphozyten etwas unterschiedlich. Während sie bei den Tieren Nr. 6 und 8 leicht zunehmen - im Vergleich vor und nach der Behandlung -, tendieren sie bei den Tieren Nr. 1, 4, 5, 9 und 10 zur Abnahme. Sie nehmen bei Tier Nr. 2 sogar sehr stark ab, wenn man die Extremwerte am Tag - 8 mit 17 % und am Tag + 14 mit 2 % granulierten Lymphozyten herausnimmt.

Bei Nr. 3 und Nr. 7 bleiben sie in etwa gleich.

Eine Korrelation zwischen der Prozentzahl der azurgranulierten Lymphozyten und der Stärke der Hautreaktion oder der Größe der behandelten Hautfläche läßt sich hier nicht feststellen. Zum Beweis sei das Tier Nr. 10 genannt, das mit die stärkste Hautreaktion aufweist, dessen Lymphozyten aber ungefähr im gleichen Verhältnis abnehmen wie bei Tier Nr. 4, das nur eine Hautreaktion mittlerer Stärke zeigt.

Tage	Tiere										Mittelwert	Standardabweichung	mittlerer Fehler
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
- 8	8	17	7	11	14	10	9	8	6	5	9,50	3,69	1,17
- 7	10	12	5	9	12	5	8	8	8	8	8,50	2,42	0,76
- 6	9	10	5	12	10	6	6	9	5	8	8,00	2,40	0,76
- 5	11	7	4	15	9	9	4	3	6	3	7,10	3,23	1,24
- 4	6	8	3	15	12	9	4	5	9	12	8,30	3,89	1,23
- 3	11	7	6	8	16	7	6	7	7	10	8,50	3,10	0,98
- 2	5	9	2	10	8	13	5	4	2	6	6,40	3,57	1,13
- 1	3	5	4	14	11	7	2	7	4	8	6,50	3,75	1,19
0	3	4	8	8	11	6	6	4	6	4	6,00	2,45	0,77
+ 1	9	7	2	14	11	5	4	4	3	4	6,30	3,89	1,23
+ 2	3	5	7	11	2	8	8	7	2	5	5,80	2,94	0,93
+ 3	5	10	5	7	12	6	3	8	4	5	6,50	2,80	0,89
+ 4	6	5	8	9	12	9	9	6	7	6	7,70	2,11	
+ 5	6	7	3	10	3	5	8	11	3	4	6,00	2,94	0,9
+ 6	3	9	2	9	5	18	3	9	1	5	6,40	5,06	1,60
+ 7	2	4	3	9	19	13	8	3	1	2	6,40	5,85	1,85
+ 8	9	3	6	7	13	10	1	8	2	3	6,20	3,91	1,24
+ 9	8	7	4	7	6	10	5	9	5	3	6,40	2,22	0,70
+ 10	7	10	3	7	12	18	5	8	2	4	7,60	4,79	1,51
+ 11	7	9	5	10	13	4	8	12	9	5	8,20	3,01	0,95
+ 12	11	6	2	2	6	8	5	12	5	4	6,10	3,38	1,07
+ 13	10	6	4	8	3	13	3	5	2	2	5,60	3,69	1,17
+ 14	6	2	5	11	10	14	2	8	3	3	6,40	4,20	1,33
+ 15	8	6	3	9	7	12	5	9	2	7	6,80	2,97	0,94
+ 16	5	5	8	10	11	11	3	11	3	4	7,10	3,45	1,09

Tab. 3

b) Mittelwerte (Abb. VIII)

Die Mittelwerte zeigen fallende Tendenz, die sich allerdings bereits vor der Behandlung andeutet. So liegt der höchste Durchschnittswert mit 9,5 % eindeutig am Beginn, der niedrigste mit 5,6 % am Tag + 13. Allgemein läßt sich hierzu sagen, daß etwa ab dem 2. Tag vor der Behandlung eine Stabilisierung der Mittelwerte eintritt.

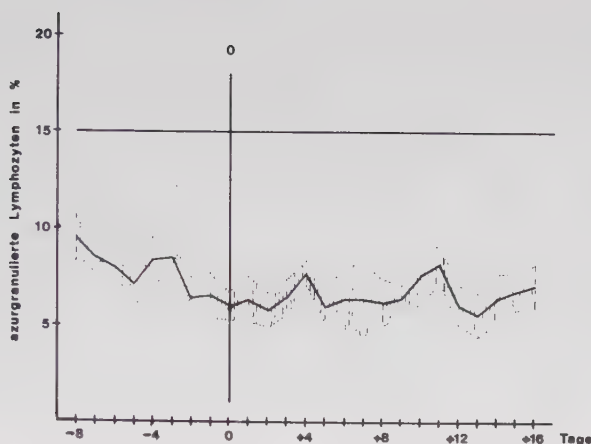


Abb.VIII

2.3. Gruppe III

2.3.1. Hautreaktionen (Tab. 4)

Hier wurden alle Tiere mit UV-Strahlen gleich lang behandelt. Im Gegensatz zur Gruppe II fielen die Hautreaktionen um rund 3 % größer und um ein bis zwei Grad stärker aus. Das mag daran gelegen haben, daß es sich bei dieser Gruppe um Weibchen handelte, die zum vergleichbaren Zeitpunkt etwas kleiner waren als die männlichen Tiere der Gruppe II.

Zur Beurteilung des toxischen Schadens konnten jedoch die gleichen Kriterien wie bei der vorigen Gruppe herangezogen werden. Abbildung IX zeigt eine Reaktion, die mit "+++" gekennzeichnet ist. Diese Effloreszenzen wiesen immerhin 3 der 10 Tiere nach 24 Stunden auf. Die histologische Absicherung des toxischen Befundes findet sich auf Abbildung X und XI. Wir sehen in der Epidermis Kern- und Plasmaschäden bis zur Nekrose bzw. blasigen Abhebung und in der Kutis das Ödem und die Gefäßerweiterungen.

	T i e r e									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Behandelte Haut- fläche in %	13,3	10,9	13,4	9,7	15,0	13,9	14,8	14,5	17,7	14,5
Stärke der Hautreaktion	+++++	+++++	++++	+++	++++	+++	+++++	+++	++++	+++++

Erläuterung:

+ ≙ Erythem mit leichter Schwellung; keine Narben

++ ≙ blaurotes Erythem mit nicht eindrückbarem Ödem; keine Narben

+++ ≙ derbe, blasige Abhebung der Haut; narbige Abheilung

++++ ≙ dunkelblauroter Blaseninhalt; narbige Abheilung

+++++ ≙ Nekrose mit blauschwarzem Blaseninhalt; narbige Abheilung

Tab. 4

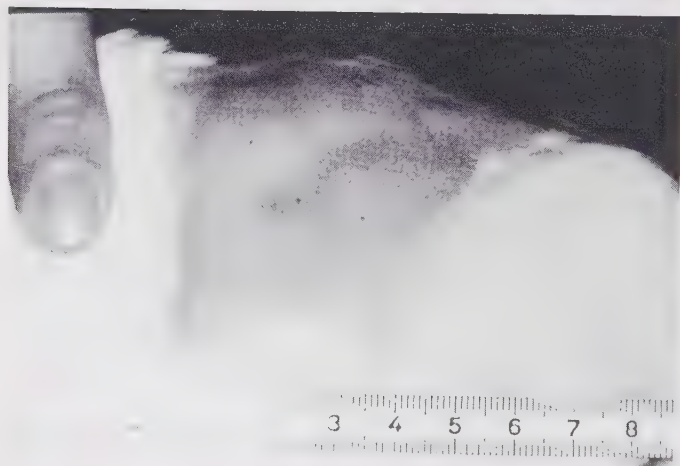


Abb. IX: Hautschädigung durch UV-Strahlen

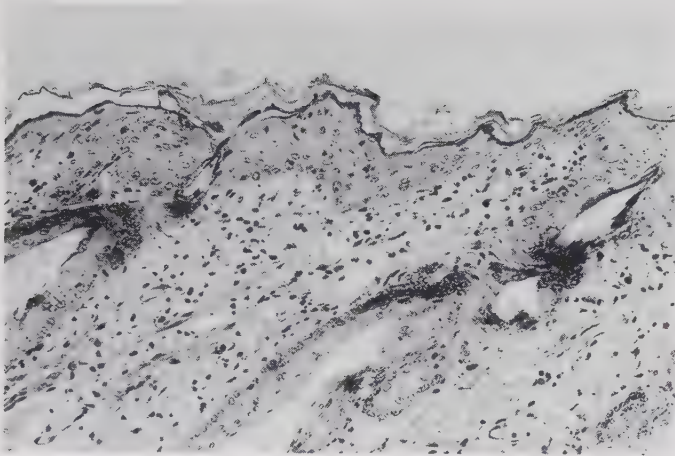


Abb. X: histologisches Bild der Hautschädigung

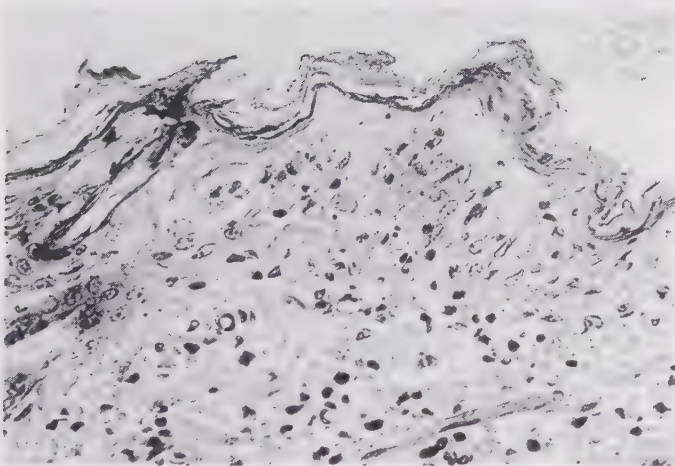


Abb. XI: epidermale Teilansicht

2.3.2. Azurgranulierte Lymphozyten

a) Einzelergebnisse (Tab. 5)

Interessant und auf den ersten Blick hervorstechend ist in dieser Versuchsreihe das Meerschweinchen Nr. 6. Es zeigte bereits vor der Behandlung sehr hohe, weit über dem Durchschnitt liegende Werte. Da das Tier jedoch äußerlich in einwandfreiem Zustand war, und auch die Gewichtskontrolle keinerlei Hinweis auf eine etwaige Krankheit brachte, wurde es in der Gruppe belassen. Wir werden auch in anderen Gruppen noch solche Tiere finden.

Tage	Tiere										Mittelwert	Standardabweichung	mittlerer Fehler
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
- 8	8	10	8	17	11	18	7	12	7	7	10,50	4,09	1,
- 7	7	7	8	8	6	25	8	12	10	10	10,10	5,53	1,75
- 6	7	5	7	12	10	20	7	14	9	8	9,90	4,43	1,40
- 5	10	13	11	9	11	24	5	11	9	7	11,00	5,10	1,61
- 4	7	14	10	7	8	19	5	8	11	4	9,30	4,47	1,41
- 3	11	14	4	10	14	8	15	8	10		10,20	3,43	1,09
- 2	8	12	5	8	15	18	11	8	12	5	10,20	4,21	1,33
- 1	3	13	13	6	5	25	7	13	15	4	10,40	6,75	2,14
0	11	17	11	12	13	28	4	13	14	11	13,40	6,10	1,93
+ 1	8	23	12	12	13	28	9	15	14	10	14,40	6,35	2,01
+ 2	3	24	14	7	15	26	5	14	14	3	12,50	8,13	2,57
+ 3	5	25	12	7	14	16	12	15	13	11	13,00	5,42	1,71
+ 4	7	25	12	11	20	18	16	18	13	7	14,70	5,77	1,83
+ 5	5	24	15	13	10	20	14	18	18	14	15,10	5,32	1,68
+ 6	1	19	17	15	11	25	13	15	9	9	13,40	6,52	2,06
+ 7	7	20	17	12	19	28	12	17	13	7	15,20	6,39	2,02
+ 8	6	17	12	14	12	20	15	14	10	11	13,10	3,87	1,22
+ 9	6	15	15	17	14	17	14	17	8	14	13,70	3,77	1,19
+ 10	9	11	16	15	17	20	11	16	16	18	14,90	3,48	1,10
+ 11	7	23	8	18	15	19	9	14	7	13	13,30	5,56	1,76
+ 12	6	19	14	13	21	12	15	14	9	12	13,50	4,35	1,38
+ 13	5	25	7	14	15	19	15	14	7	14	13,50	6,00	1,90
+ 14	5	26	14	10	17	13	14	9	18	14	14,00	5,70	1,80
+ 15	7	16	8	7	18	16	13	14	6	11	11,60	4,40	1,39
+ 16	7	23	9	8	19	24	9	8	11	13	13,10	6,49	2,05

Tab. 5

Die Werte bei den übrigen Meerschweinchen bewegen sich vor Behandlungsbeginn im Rahmen der normalen Streubreite. Das ändert sich aber mit dem Tag 0. Mit Ausnahme von Nr. 1 und 6 zeigt sich bei allen Tieren - meist beginnend mit dem ersten Tag nach der Behandlung - ein eindeutiger Anstieg der azurgranulierten Lymphozyten. Die Prozentzahlen bleiben bei Nr. 4, 8 und 9 etwa bis zum 10., 11. oder 12. Tag nach der Behandlung über den Ausgangswerten, um dann langsam wieder abzufallen. Am Ende der Auszählungsperiode finden wir dagegen bei den restlichen Tieren noch Werte, die über dem Ausgangspunkt liegen. Sie korrelieren in diesem Punkt also nicht mit den Hautreaktionen, die zu dem Zeitpunkt bereits abgeheilt waren. Hervorzuheben ist hier noch besonders das Tier Nr. 2, dessen höchster Wert vor der Behandlung 14 % beträgt, das jedoch innerhalb von 24 Stunden nach der Behandlung schon Werte über 20 % erreicht und sie bis zum Ende der Untersuchung beibehält, wobei der Maximalwert am 14. Tag nach UV-Exposition bei 26 % liegt. Das "Ausnahme-Meerschweinchen" Nr. 6 zeigt im Blutbild keine Reaktion und bleibt in seinen Werten ungefähr gleich.

Auch in der vorliegenden Versuchsreihe zeigt sich keine Korrelation zwischen Stärke der Hautreaktion und Anstieg der azurgranulierten Lymphozyten. Als Beispiel dient wiederum Tier Nr. 2, das die gleiche, sehr starke Hautreaktion wie Tier Nr. 1 aufweist, dessen Lymphozyten nicht ansteigen, sondern leicht abfallen.

b) Mittelwerte (Abb. XII)

Wie aufgrund der Einzelergebnisse nicht anders zu erwarten ist, steigen auch die Mittelwerte bereits am Tag der Behandlung merklich an und erreichen als höchsten Wert 15,2 % am Tag + 7. Dies ist eine deutliche Steigerung gegenüber 11,0 %, dem höchsten Wert vor der Behandlung am Tag - 5.

Zum Anstieg am Tag 0 muß noch erwähnt werden, daß den Meerschweinchen an diesem Tag Blut für den Ausstrich, etwa 3 Stunden nach der Behandlung mit UV-Strahlen, abgenommen wurde.

Gegen Ende der Beobachtungszeit nehmen etwa gleichzeitig mit der Abheilung der Hautreaktionen die Mittelwerte leicht ab, bleiben aber immer noch - sogar mit ihrem niedrigsten Wert von 11,6 % am Tag + 15 - über den Ausgangswerten vor dem Tag 0.

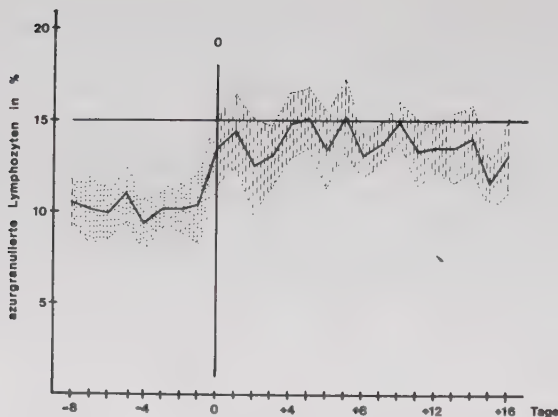


Abb. XII

2.4. Gruppe IV

2.4.1. Hautreaktionen (Tab. 6)

Die behandelten Hautflächen waren bei der Trichloressigsäure-Gruppe im Durchschnitt noch um etwa 2 % größer als bei der UV-Gruppe. Es zeigte sich auch, daß diese Behandlungsart am schlechtesten vertragen wurde: die Tiere nahmen durchschnittlich 5 % ihres Ausgangsgewichts innerhalb eines Tages ab.

	Tiere									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Behandelte Hautfläche in %	14,9	17,0	15,0	12,9	14,9	19,5	15,7	15,0	18,3	16,6
Stärke der Hautreaktion	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++++	++

Erläuterung:

- + ≙ leichtes Erythem mit anschließender leichter Schuppung
- ++ ≙ starkes Erythem mit anschließender starker Schuppung
- +++ ≙ starkes Erythem; oberflächlicher Ätzschorf; geringe Narbenbildung
- ++++ ≙ starkes Erythem; tiefer Ätzschorf; starke Narbenbildung

Tab. 6

Bei der Bewertung der Reaktionsstärke wurde eine eigene Einteilung gewählt, da die üblichen Literaturangaben den Verlauf der Lokalerscheinungen in allen Fällen als sehr ähnlich kennzeichnen (66, 187). Das trifft zwar im großen und ganzen auch für diese Versuchsreihe zu, bei der immerhin 6 Tiere die gleiche Reaktion aufwiesen; der Unterschied der restlichen 4 Tiere dazu war jedoch so deutlich, daß eine Abstufung erfolgen mußte.

Zum zeitlichen Verlauf ist zu bemerken, daß hier nicht, wie bei den vorigen Gruppen, bereits nach 24 Stunden das Vollbild der toxischen Reaktion zu beobachten war, sondern sich die stärkste makroskopische Reaktion erst nach 3 bis 4 Tagen einstellte. So zeigt Abbildung XIII ein Tier, das 2 Tage nach dieser Aufnahme eine Reaktion "+++" bot. Die nach 24 Stunden entnommene Probeexzision zeigt jedoch schon das Bild einer toxischen Dermatitis (Abb. XIV und XV) mit Zerstörung der Epidermis und massivem Infiltrat, wogegen keine Auflockerung, sondern eher eine Verdichtung des Bindegewebes feststellbar ist: ein Phänomen, das der Säureverätzung entspricht.

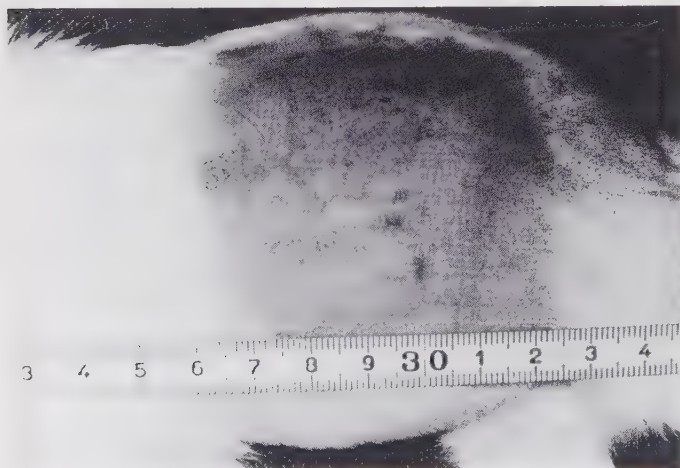


Abb. XIII: Hautschädigung durch Trichloressigsäure

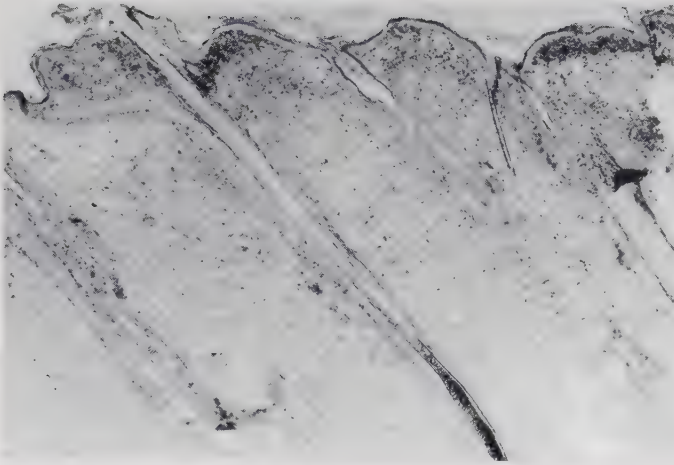


Abb. XIV: histologisches Bild der Hautschädigung

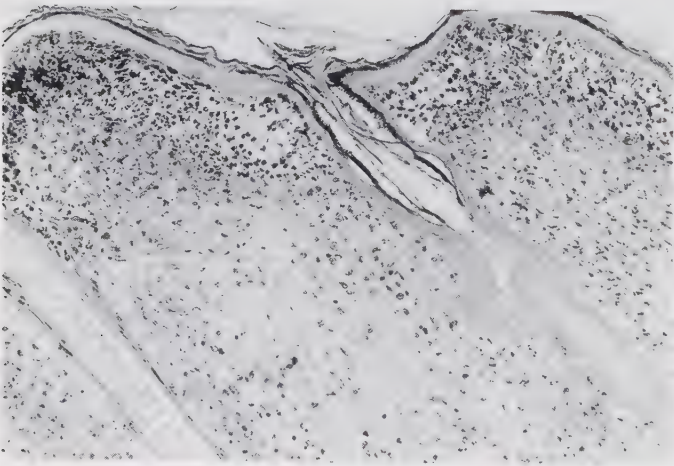


Abb. XV: vergrößerte Teilansicht von Abbildung XIV

2.4.2. Azurgranulierte Lymphozyten

a) Einzelergebnisse (Tab. 7)

In dieser Versuchreihe finden sich die Meerschweinchen mit den geringsten Ausgangswerten, z.B. Nr. 4 mit 1 % an drei aufeinanderfolgenden Tagen.

Nach der toxischen Exposition zeigt sich bei Nr. 1, 2, 6, 7, 9 und 10 ein leichter Anstieg der Werte, der sein Maximum um den 6. Tag nach der Behandlung erreicht. Danach kehren die meisten Tiere wieder zu ihren Ausgangswerten zurück.

Die übrigen 4 Meerschweinchen lassen keine klare Reaktion ihrer azurgranulierten Lymphozyten erkennen.

Auch bei diesem Versuch ist keine Verbindung zwischen Hautreaktion und Verhalten der azurgranulierten Lymphozyten festzustellen.

Tage	Tiere										Mittelwert	Standardabweichung	mittlerer Fehler
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
- 8	8	14	8	4	2	5	5	12	5	10	7,30	3,80	1,20
- 7	5	11	4	2	5	2	2	7	5	5	4,80	2,74	0,87
- 6	3	6	4	1	4	3	3	10	3	3	4,00	2,45	0,77
- 5	7	11	6	1	4	5	4	4	4	4	5,00	2,62	0,83
- 4	5	8	11	1	9	7	4	5	3	4	5,70	3,02	0,96
- 3	7	9	12	2	4	5	3	3	8	5	5,80	3,16	1,00
- 2	14	8	15	9	6	9	12	6	8	5	9,20	3,43	1,09
- 1	6	8	14	9	12	7	12	7	9	7	9,10	2,69	0,85
0	11	12	10	4	7	7	5	11	4	13	8,40	3,41	1,08
+ 1	12	12	8	8	2	10	6	4	7	12	8,10	3,48	1,10
+ 2	10	11		2	7	6	5	8	3	9	7,40	3,50	1,11
+ 3	9	9	10	1	3	9	3	6	6	11	6,70	3,43	1,09
+ 4	10	5	13	8	7	9	5	8	9	12	8,60	2,63	0,83
+ 5	10	13	11	4	7	3	8	8	10	9	8,30	3,06	0,97
+ 6	15	14	15	4	5	9	7	15	15	6	10,50	4,72	1,49
+ 7	14	16	13	6	8	4	12	7	10	12	10,20	3,85	1,22
+ 8	11	13	15	5	8	9	9	8	8	8	9,40	2,88	0,91
+ 9	13	11	12	5	6	11	6	6	11	9	9,00	2,98	0,94
+ 10	14	10	5	7	7	6	7	9	13	8	8,60	2,95	0,93
+ 11	8	5	4	3	7	12	9	14	14	10	8,60	3,95	1,25
+ 12	9	11	6	4	6	9	11	13	3	12	8,40	3,47	1,10
+ 13	9	9	12	4	4	7	8	5	3	5	6,40	3,06	0,97
+ 14	12	14	12	4	1	2	7	4	3	4	6,30	4,69	1,48
+ 15	10	6	8	3	3	10	5	4	9	4	6,20	2,82	0,89
+ 16	10	9	7	2	4	11	6	11	10	10	8,00	3,13	0,99

Tab. 7

b) Mittelwerte (Abb. XVI)

Auch die Mittelwerte der unbehandelten Tiere in dieser Versuchsgruppe sind zumindest an den ersten Tagen relativ niedrig und erreichen sogar mit 4 % am Tag - 6 das Minimum aller 8 Gruppen. 2 Tage vor Tag 0 läßt sich jedoch plötzlich ein leichter Anstieg feststellen.

Nach der Behandlung sinken für 3 Tage die Werte leicht ab, um schließlich am 6. Tag mit 10,5 % das Maximum bei dieser Gruppe zu erzielen. Anschließend nehmen die einzelnen Tagesmittelwerte langsam wieder ab, um am Ende etwa die gleiche Höhe wie vor der Behandlung zu erreichen.

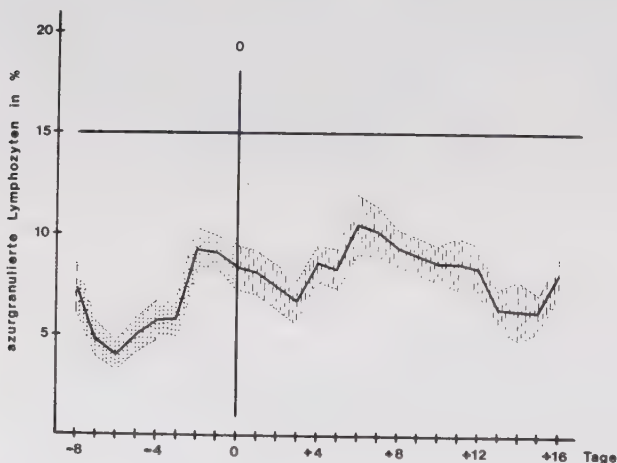


Abb. XVI

2.5. Gruppe V

2.5.1. Hautreaktionen

Die Reaktionen wurden bei dieser und bei den folgenden Gruppen, die alle mit DNCB-Salbe behandelt wurden, jeweils 24 Stunden nach Abnahme des Pflasters abgelesen, um eine Beeinflussung durch ein etwaiges beim Abziehen des Pflasters entstandenes Reflexerythem zu vermeiden (8, 22, 76).

So zeigte die Versuchsreihe V am Tag S_4 ausnahmslos sehr starke Rötung, Schwellung und ein deutlich tastbares Infiltrat (66, 97, 156).

Am Ablesetag der Testreaktion (T_4) wiesen nur die Nr. 3, 5 und 6 eine mittlere Rötung auf. Die anderen zeigten wiederum sehr starke Rötung und Schwellung; das Infiltrat war bei allen Tieren vorhanden.

Am Tag B_4 war nur bei Nr. 3 und 5 ein geringeres Erythem festzustellen. Die übrigen Meerschweinchen reagierten zum Teil noch stärker als am Tag T_4 .

Makroskopische und histologische Beweise für die eingetretene Sensibilisierung können hier und bei den folgenden Gruppen der Dissertation von M.-W. KLEINE entnommen werden (72).

2.5.2. Azurgranulierte Lymphozyten

a) Einzelergebnisse (Tab. 8 a und b)

In dieser Versuchsreihe weisen 2 Meerschweinchen (Nr. 8 und 9) bereits sehr hohe Normalwerte auf (Tab. 8 a); aber auch die Werte der Nr. 1, 3, 7 und 10 sind schon zu Beginn des Versuchs überdurchschnittlich hoch. Den höchsten Normalwert der Gruppe erreicht Nr. 8 am 1. Tag mit 28 %.

Dementsprechend sind auch die Versuchswerte besonders heterogen: Die Tiere Nr. 1 und 2 steigen in ihren Werten bis zum Tag S_{13} an, um dann bis S_{16} etwas abzufallen und erst am 5. Tag nach Beginn der Auslösephase wieder hohe Werte zu erreichen.

Die Werte der Meerschweinchen Nr. 3 und 6 bleiben bis auf die Tage T_4 und T_5 relativ gleich.

Bei Tier Nr. 4 steigen sie an S_9 leicht an, fallen an T_1 leicht ab und steigen dann stärker bis T_5 . An diesem Tag erreicht das Tier insgesamt den höchsten Wert aller Tiere in der Testphase mit 37 %.

Geringfügig erhöhte Werte zeigt Tier Nr. 5 erst ab S_{16} .

Nr. 7, 8 und 9 fallen sogar im Verlauf des Versuchs leicht ab.

Nr. 9 erreicht dafür aber mit 35 % an S_5 den höchsten Wert aller Tiere in der Sensibilisierungsphase.

Nr. 10 hat seine meisten azurgranulierten Lymphozyten zu Beginn der Sensibilisierung und dann erst wieder ab S_{15} .

Tage	T i e r e										Mittel- wert	Standard- abweichung	mittlerer Fehler
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
N ₁	14	9	7	12	6	6	8	28	16	13	11,90	6,66	2,11
N ₂	15	7	14	14	5	11	18	11	21	18	13,40	5,02	1,59
N ₃	17	10	17	12	9	7	17	27	20	13	14,90	5,95	1,88
N ₄	14	12	7	15	2	4	15	25	23	19	13,60	7,64	2,42
S ₁	13	12	7	10	5	12	12	24	17	23	13,50	6,20	1,96
S ₂	18	14	12	12	5	9	10	17	19	16	13,20	4,44	1,40
S ₃	18	14	8	14	3	7	14	15	22	20	13,50	5,97	1,89
S ₄	17	23	5	17	14	8	17	20	20	23	16,40	5,97	1,89
S ₅	20	5	7	9	10	7	10	24	35	13	14,00	9,51	3,01
S ₆	18	15	10	13	4	8	14	14	12	11	11,90	3,93	1,24
S ₇	19	9	13	16	4	6	12	12	6	14	11,10	4,79	1,52
S ₈	25	16	6	10	9	9	18	20	23	7	14,30	6,96	2,20
S ₉	20	13	14	19	5	6	12	8	14	13	12,40	4,97	1,57
S ₁₀	15	16	11	10	11	18	11	25	9	15	14,10	4,84	
S ₁₁	29	18	10	19	10	11	8	31	17	22	17,50	8,05	2,54
S ₁₂	15	11	15	17	11	8	11	17	14	15	13,40	2,99	0,95
S ₁₃	21	19	11	25	9	10	14	20	7	17	15,30	5,98	1,89
S ₁₄	17	15	9	19	5	7	11	23	11	9	12,60	5,72	1,81
S ₁₅	13	15	18	27	10	12	14	19	19	30	17,70	6,46	2,04
S ₁₆	9	10	11	17	16	7	12	16	8	20	12,60	4,38	1,38
T ₁	17	15	11	11	13	10	8	11	8	17	12,10	3,31	1,05
T ₂	17	6	13	26	17	11	7	20	11	17	14,50	6,11	1,93
T ₃	17	3	11	28	16	14	15	22	19	16	16,10	6,57	2,08
T ₄	16	16	18	28	16	18	5	9	15	11	15,20	6,16	1,95
T ₅	25	21	16	37	13	14	17	12	23	26	20,40	7,69	2,43

Tab. 8a

Dieses stark variierende Bild ändert sich aber schlagartig nach 4 Wochen beim Booster-Effekt (Tab. 8 b):

Hier weisen bereits Nr. 5, 7, 8, 9 und 10 gegenüber den Normalwerten stark erhöhte Prozentzahlen auf. Mit Einsetzen der Booster-Reaktion steigen dann aber die Werte aller Tiere ausnahmslos an. Es gibt an den 5 Tagen nach Pflasterauflage kein Tier, das bei der Auszählung der Lymphozyten nicht mindestens einmal die Grenze von 20 % überspringt. Den höchsten Wert, der überhaupt in einer Gruppe gemessen wurde, liefert Nr. 9 am Tag B₅

mit 44 %. Allerdings muß dazu bemerkt werden, daß Nr. 9 bereits 23 % als höchsten Normalwert aufweist. Dennoch ist die allgemeine Steigerung der Werte bei diesem Booster-Effekt wohl klar zu erkennen.

Da alle Tiere etwa die gleiche Hautreaktion aufweisen, kann wieder keine Korrelation zu den Blutwerten hergestellt werden.

Tage	Tiere										Mittelwert	Standardabweichung	mittlerer Fehler
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
T ₂₇	12	14	9	16	22	15	24	29	27	20	18,80	6,65	2,10
T ₂₈	17	25	12	24	10	16	22	20	13	21	18,00	5,21	1,65
T ₂₉	19	19	13	9	10	18	16	28	26	25	18,30	6,57	2,08
B ₁	29	14	10	20	19	24	28	33	20	18	21,50	7,06	2,23
B ₂	16	25	16	22	14	17	21	21	11	26	18,90	4,87	1,54
B ₃	26	19	20	17	26	24	25	34	35	36	26,20	6,80	2,15
B ₄	21	19	15	16	20	15	15	26	23	20	19,00	3,77	1,19
B ₅	16	23	19	21	15	28	14	31	44	22	23,30	9,10	2,88

Tab. 8 b

b) Mittelwerte (Abb. XVII)

Zu Beginn liegen die Mittelwerte entsprechend den hohen Einzelergebnissen relativ nahe an der angenommenen Normalgrenze von 15 %, so beispielsweise am 3. Tag nach Auszählungsbeginn mit 14,9 %.

Während der Sensibilisierungsperiode übersteigen sie zwar viermal diesen Wert, bleiben aber sonst relativ gleichmäßig bei einem Mittelwert von etwa 13,5 %.

Da in früheren Untersuchungen (78) schon in der Sensibilisierungsphase ein Anstieg der azurgranulierten Lymphozyten festzustellen war, wurde diese Gruppe mit der im folgenden noch eingehender beschriebenen Gruppe VI an den gleichlautenden Tagen zusammengefaßt und in Abbildung XVIII dargestellt. Hier zeigt sich nun bei 20 Tieren ein deutlicher Anstieg, der seinen Höhepunkt am letzten gemeinsamen Auszählungstag (T₃) erreicht, abgesehen von einer kleinen Senke bei S₇.

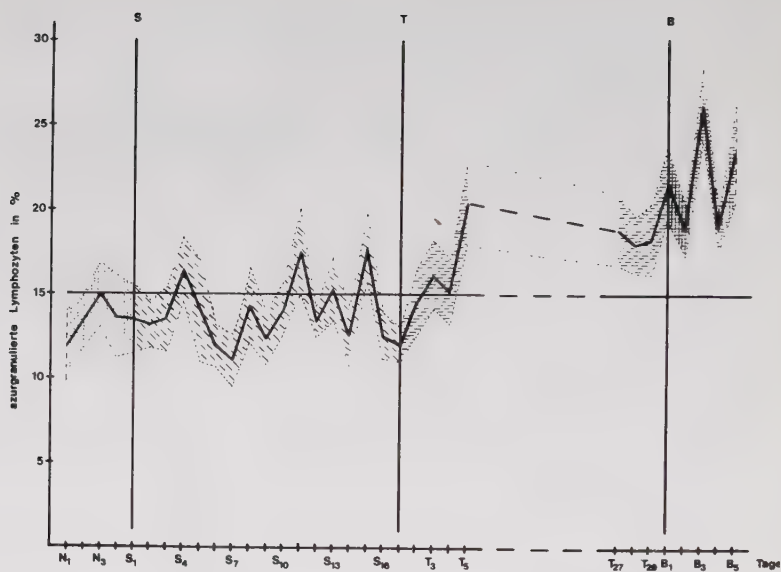


Abb. XVII

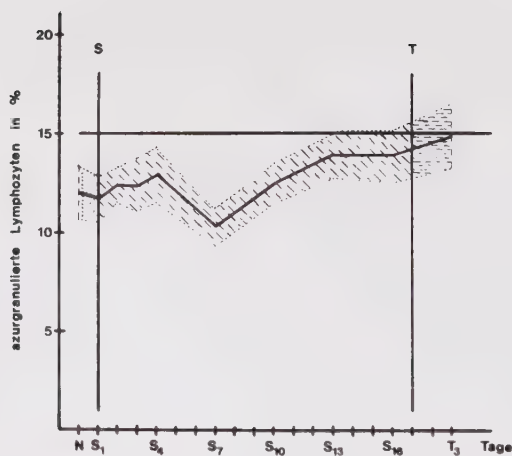


Abb. XVIII: Mittelwerte der Gruppen V und VI

Daß sich bei Gruppe V allein kein so klarer Anstieg in der Sensibilisierungsphase abzeichnet, mag mit daran liegen, daß 6 der 10 Versuchstiere bereits zu Anfang sehr hohe Werte aufweisen, die sie im Laufe der Sensibilisierung nicht hinreichend steigern können.

Bei weiterer Betrachtung der Abbildung XVII sind noch der Abfall des Mittelwerts an T_1 und der daran anschließende Aufstieg bis zum Wert 20,4 % am letzten Prüfungstag der Testphase von besonderem Interesse.

Wie nicht anders zu erwarten, zeigen schon die 3 Mittelwerte vor Booster-Beginn sehr hohe Prozentzahlen (über 18 %). Diese Werte werden dann noch an den 5 Booster-Tagen übertroffen: der niedrigste Wert von 18,9 % wird dabei am Tag B_2 , der höchste von 26,2 % am darauffolgenden Tag erreicht. 26,2 % stellt zugleich den höchsten Mittelwert aller Gruppen dar. Damit zeigt sich ein klarer Unterschied zu den Ausgangswerten, ja sogar zur Sensibilisierungsphase.

2.6. Gruppe VI

2.6.1. Hautreaktionen

Diese Tiere - außer Nr. 1 und 2 - zeigten auf den 0,5%igen Sensibilisierungsreiz sehr starke Rötung und deutliches Infiltrat. Die beiden Ausnahmen zeigten nur mittelstarkes Erythem und tastbares Infiltrat. Die Reaktion wurde ebenso wie bei der vorigen Reihe am Tag S_4 abgelesen.

Am Tag nach der Abnahme des Testpflasters begann bereits die DNCB-Fütterung. Am gleichen Tag (F_1) wiesen alle Tiere ohne Ausnahme eine sehr starke Rötung und ein fühlbares Infiltrat auf. Das war die Manifestation der mit 0,1%igem DNCB ausgelösten Reaktion.

Nach der Fütterungsperiode wurden die Tiere abermals mit 0,1%igem DNCB getestet. Die Haut wurde - ebenfalls 24 Stunden nach Pflasterabnahme - mit folgendem Ergebnis begutachtet: Nr. 3, 5 und 9 zeigten keinerlei Hautreaktion; Nr. 4 und 10 wiesen eine sehr schwache Rötung auf; bei Nr. 1 war die Rötung etwas kräftiger; nur Nr. 2 und 8 hatten neben mittelstarkem Erythem ein leichtes Infiltrat; Nr. 6 und 7 waren zwischenzeitlich gestorben.

2.6.2. Azurgranulierte Lymphozyten

a) Einzelergebnisse (Tab. 9)

Bis zu seinem Tod bleibt Meerschweinchen Nr. 6 in seinen Lymphozyten relativ gleich, während Nr. 7 sogar geringfügig abnimmt, eine Tendenz, die sich in der Fütterungsphase bei diesem Tier verstärkt fortsetzt.

Tage	Tiere										Mittelwert	Standardabweichung	mittlerer Fehler
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
N	8	6	8	11	10	9	18	15	7	12	10,40	3,75	1,19
S ₁	9	6	12	10	5	11	13	15	8	10	9,90	3,07	0,97
S ₂	12	7	9	9	14	19	14	11	9	12	11,60	3,47	1,10
S ₃	18	10	15	3	14	21	12	8	6	5	11,20	5,87	1,85
S ₄	10	6	19	5	8	18	9	6	5	8	9,40	5,08	1,61
S ₇	12	7	9	9	7	15	16	6	7	7	9,50	3,60	1,14
S ₁₀	12	11	10	10	6	17	17	10	6	9	10,80	3,79	1,20
S ₁₃	18	9	17	8	16	15	13	9	8	11	12,40	3,89	1,23
S ₁₆	25	10	29	12	18	10	13	15	12	7	15,10	7,00	2,21
T ₃	30	11	21	22	13	9	10	7	5	9	13,70	7,99	2,53
F ₁	25	16	13	17	13	11	4	11	8	5	12,30	6,17	1,95
F ₄	25	15	20	15	16	20	8	13	7	15	15,40	5,44	1,72
F ₇	17	2	15	12	14	14	9	14	9	7	11,30	4,52	1,43
F ₁₀	11	12	20	33	17	13	8	8	12	13	14,70	7,39	2,34
F ₁₃	17	12	31	11	17	4	7	8	17	5	13,89	7,87	2,62
F ₁₆	16	15	13	16	15	4	8	8	3		11,75	4,83	1,71
T ₃	11	18	11	10	6		6	15	6		10,38	4,44	1,57
T ₄	12	18	19	17	11			19	20	13	16,13	3,56	1,26
T ₅	16	18	16	16	10			9	21	11	14,63	4,21	1,49

Tab. 9

Die Lymphozyten der übrigen Tiere kann man in ihrem Verhalten vor und nach der DNCB-Fütterung wie folgt vergleichen:

Vorher reagieren sie fast alle gleich, indem sie etwa bis zum Tag F₄ entweder stark ansteigen wie Nr. 1, 2 und 3, nur einen leichten Anstieg verbuchen wie Nr. 4 und 5 oder aber ungefähr das Niveau ihrer azurophilen Granula halten können wie Nr. 8, 9 und 10.

Nach Beginn der Fütterung fallen sie im Laufe des Versuchs trotz zweiter Auslösereaktion wieder auf ihre Normalwerte zurück.

Nr. 3 und 4 zeigen während der Fütterungszeit noch relativ hohe Werte - Nr. 4 erreicht an F₁₀ mit 33 % den höchsten Wert dieser Gruppe -, fallen jedoch während der Testzeit auf Werte zurück, die zwar etwas über ihren normalen, aber auch deutlich unter ihren Spitzenwerten liegen.

Einen weiteren Anstieg, besonders während der Testphase, verzeichnen dagegen die Tiere Nr. 2 und 9, während Meerschweinchen Nr. 8 und 10 den ganzen Versuch hindurch gleichbleiben.

Auch hier gibt es keine Korrelation zwischen Hauteffloreszenzen und azurophilen Granula, was am besten an den Tieren Nr. 2 und 9 zu demonstrieren ist: Nr. 2 zeigt eine deutliche Hautreaktion und Nr. 9 überhaupt kein Ekzembild; beide steigen aber nach der Fütterungsphase in ihren Lymphozyten weiter an.

b) Mittelwerte (Abb. XIX)

Nach anfänglichen, leichten Schwankungen steigen die Mittelwerte ab S_4 kontinuierlich an, bis sie an S_{16} mit 15,1 % den höchsten Sensibilisierungswert erreichen. Darauf erfolgen größere Schwankungen - auch die Schwankungsbreite, also der mittlere Fehler, nimmt zu -, doch finden diese Wechsel zwischen hohen und niedrigen Werten auf einem höheren Durchschnittsniveau statt als bei Beginn der Versuchsreihe. Dabei muß natürlich bemerkt werden, daß hier und bei den folgenden Gruppen nicht mehr täglich Blutausstriche angefertigt wurden. Das kann einerseits die hohen Schwankungen, andererseits aber auch den relativ glatten Anstieg in der Sensibilisierung erklären.

Der Maximalwert in dieser Gruppe wird schließlich am Tag T_4 mit 16,1 % erreicht.

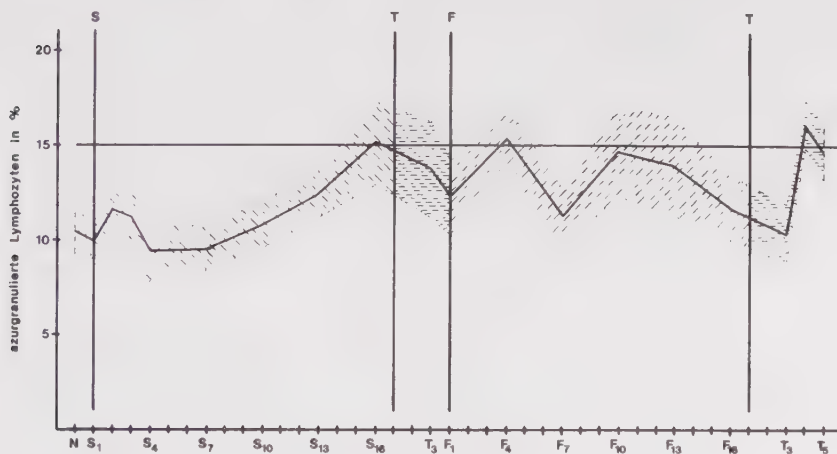


Abb. XIX

2.7. Gruppe VII

2.7.1. Hautreaktionen

Alle Tiere der Versuchsreihe wiesen in der an die Fütterungsphase anschließenden Sensibilisierungsperiode ein deutlich tastbares Hautinfiltrat auf. Bis auf die Tiere Nr. 2, 3 und 4, die nur mittelstarke Rötung zeigten, war bei allen anderen Meerschweinchen das Erythem sehr stark ausgeprägt.

Bei der anschließenden Testreaktion war das Bild jedoch ganz anders: Nur bei den Tieren Nr. 1, 6, 8 und 10 trat geringe Rötung auf, alle anderen zeigten keinerlei Reaktionen.

2.7.2. Azurgranulierte Lymphozyten

a) Einzelergebnisse (Tab. 10)

In dieser Gruppe finden sich die Tiere, die mit die höchsten Normalwerte aller Versuchsreihen aufweisen: Nr. 1, 2, 8 und 10 liegen im Durchschnitt über 19 %; Nr. 8 erreicht sogar mit 36 % an N_2 den höchsten "Normalwert" aller Gruppen. Da die Tiere jedoch keinerlei Anzeichen von Erkrankung aufwiesen, wurden sie im Versuch weitergeführt, um die statistisch wichtige Randomisierung beizubehalten. Darüber hinaus hat sich ja bei Gruppe V gezeigt, daß Tiere mit hohen Ausgangswerten diese bei der Auslösereaktion entsprechend stark zu steigern vermögen.

Interessant gestaltet sich allerdings das Verhalten der Tiere in der Fütterungsphase: Während Nr. 2, 3, 4, 6 und 7 in dieser Zeit keine Veränderungen in ihren azurgranulierten Lymphozyten zeigen, fallen die überdurchschnittlich "hohen" Tiere, außer Nr. 2, etwa auf Normalwerte ab. Nr. 5 und 9 dagegen verbuchen als einzige einen Anstieg leichten Ausmaßes. Damit konnte man bei Beginn der Sensibilisierung von 9 Meerschweinchen mit ungefähr normalen Werten ausgehen.

Von den 9 Meerschweinchen zeigen nun Nr. 3, 4, 5, 6, 8, 9 und 10 entweder in der Sensibilisierungs- oder in der Auslösungsperiode gegenüber den Normalwerten bzw. den in der Fütterungsphase erreichten "Normalwerten" einen leichten Anstieg. Bei Nr. 1 und 7 ist der Anstieg sogar relativ kräftig; immerhin erreicht Nr. 1 mit 32 % an S_{10} und mit 30 % an T_5 jeweils die höchsten Werte

dieser Phasen in der Versuchsreihe. Allerdings darf dabei nicht vergessen werden, daß das Tier als höchsten Normalwert 26 % an N_1 aufweist.

Das Tier Nr. 2 bildet eine Ausnahme, da es sowohl in Sensibilisierung wie in Testung langsam auf Normalwerte abfällt.

Die Zeit der höchsten Ausbeute an azurgranulierten Lymphozyten - hinsichtlich aller Tiere - sind in dieser Gruppe ohne Zweifel die Tage S_{10} bis T_3 .

Eine Beziehung zwischen Hautreaktion und azurgranulierten Lymphozyten läßt sich auch hier nicht herstellen.

Tage	Tiere										Mittelwert	Standardabweichung	mittlerer Fehler
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
N_1	26	22	14	11	5	13	8	27	6	24	15,60	8,45	2,67
N_2	22	20	6	10	12	14	4	36	12	26	16,20	9,82	3,10
N_3	21	19	4	11	12	3	7	24	7	22	13,00	7,89	2,49
N_4	11	16	9	5	13	12	8	26	10	16	12,60	5,82	1,84
F_1	16	28	15	10	8	8	16	23	10	10	14,40	6,70	2,12
F_4	7	22	16	6	16	15	7	12	10	15	12,60	5,13	1,62
F_7	6	18	7	10	12	14	7	12	19	16	12,10	4,65	1,47
F_{10}	14	13	13	10	11	8	10	12	14	8	11,30	2,26	0,72
F_{13}	15	23	9	22	19	9	9	21	20	12	15,90	5,76	1,82
F_{16}	16	21	3	5	10	13	6	12	16	6	10,80	5,83	1,84
S_1	19	11	8	12	7	16	7	23	18	6	12,70	5,96	1,89
S_3	16	8	6	13	6	13	12	25	22	7	12,80	6,61	2,09
S_4	24	20	7	14	5	10	7	14	21	15	13,70	6,50	2,06
S_7	15	6	7	14	4	10	6	11	15	7	9,50	4,09	1,29
S_{10}	32	14	20	21	26	20	10	19	15	8	18,50	7,18	2,27
S_{13}	16	8	10	23	15	20	29	28	18	7	17,40	7,78	2,46
S_{16}	29	11	8	18	10	10	20	12	14	15	14,70	6,27	1,98
T_3	16	10	12	22	25	10	22	15	22	9	16,30	6,02	1,90
T_4	17	7	13	9	8	6	21	9	14	11	11,50	4,77	1,51
T_5	30	14	18	14	11	17	22	17	18	11	17,20	5,63	1,78

Tab. 10

b) Mittelwerte (Abb. XX)

Erwartungsgemäß steigen die Mittelwerte der Gruppe an den ersten beiden Auszählungstagen über die maximale Prozentzahl von 15 %, um dann jedoch für die gesamte Fütterungszeit - mit Ausnahme von F_{13} - und für den Beginn der Sensibilisierungsphase um Werte zwischen maximal 14,4 % an F_1 und 9,5 % an S_7 zu schwanken.

Hierauf findet sich ein deutlicher Anstieg an S_{10} mit 18,5 %, der mit einer kleinen Senke an T_4 mit 11,5 % bis zum Schluß anhält.

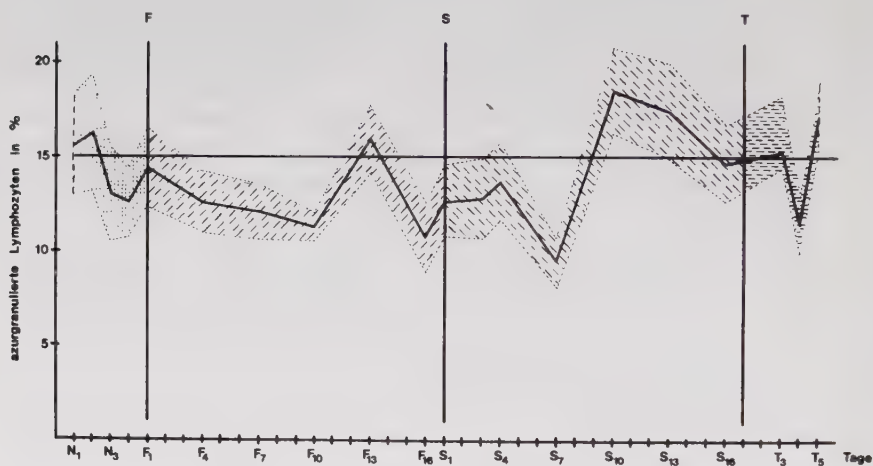


Abb. XX

2.8. Gruppe VIII

2.8.1. Hautreaktionen

In dieser Versuchsreihe starben die Tiere Nr. 6 und 7 relativ bald nach Beginn des Versuches, so daß sie weder bei den Hautreaktionen noch bei den azurgranulierten Lymphozyten oder bei der statistischen Berechnung berücksichtigt werden konnten. Sie sind bei den Lymphozytenergebnissen (Tab. 11) deshalb auch nur der Vollständigkeit halber angeführt.

Die übrigen 8 Tiere zeigten am 4. Tag der gleichzeitigen Sensibilisierung und Fütterung mit DNCB ohne Ausnahme sehr starke Rötung und deutliches Infiltrat.

Nach der Auslösung wiesen nur die Meerschweinchen Nr. 1, 2, 8 und 9 eine leichte Rötung auf; die restlichen 4 Tiere waren ohne Reaktion.

2.8.2. Azurgranulierte Lymphozyten

a) Einzelergebnisse (Tab. 11)

Auch hier sind einige Tiere - zumindest am 1. Tag des Versuchs - in ihren Werten relativ hoch, so Nr. 1, 3, 5, 6 und 10.

Im Verlauf des Versuchs bleiben dann Nr. 1, 2 und 4 durch alle Perioden hindurch in etwa gleich; Nr. 5 und 8 fallen dagegen leicht ab, während Nr. 3 bis zum Beginn der Testung relativ gleichbleibt und erst dann leicht abfällt.

Den einzigen Anstieg während der S/F-Phase verzeichnet Tier Nr. 9; es erreicht mit 31 % an S/F₁₆ den absoluten Spitzenwert der ganzen Gruppe; bei der Auslösereaktion bleibt es dann auch auf einem gegenüber den Normalwerten leicht erhöhten Niveau.

Nr. 10 weist dagegen in der S/F-Phase einen starken Abfall auf, den es in der Testungszeit wieder leicht kompensiert. Dieses Meerschweinchen hat allerdings auch hohe Ausgangswerte.

Ein Zusammenhang zwischen Haut- und Blutzellenreaktion läßt sich wieder nicht konstatieren.

Tage	Tiere										Mittelwert	Standardabweichung	mittlerer Fehler
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
N ₁	20	18	22	11	25	18	6	10	11	16	16,63	5,60	1,98
N ₂	8	16	10	12	11	17	9	12	14	21	13,00	4,04	1,43
N ₃	14	12	9	12	15	15	4	8	15	20	13,13	3,80	1,34
N ₄	16	5	6	7	9	19	11	7	12	16	10,25	3,99	1,41
S/F ₁	13	12	9	10	22	16	7	9	19	18	14,00	5,01	1,77
S/F ₂	16	8	11	12	7	20	5	7	20	11	11,50	4,57	1,61
S/F ₄	12	13	18	8	9	*	6	5	10	10	10,63	3,85	1,36
S/F ₇	5	10	12	11	8		3	5	16	4	8,88	4,16	1,47
S/F ₁₀	9	19	9	9	10		+	8	8	8	10,00	3,70	1,31
S/F ₁₃	16	14	18	14	22			6	15	3	13,50	6,19	2,19
S/F ₁₆	8	9	10	10	8			9	31	8	11,63	7,87	2,78
T ₃	11	14	8	8	14			4	19	15	11,63	4,81	1,70
T ₄	10	14	6	12	6			5	17	16	10,75	4,74	1,68
T ₅	17	16	6	13	10			12	11	16	12,63	3,70	1,31

Tab. 11

b) Mittelwerte (Abb. XXI)

Die Mittelwerte, bei denen Nr. 6 und 7 nicht berücksichtigt sind, übersteigen nur einmal und ausgerechnet am 1. Versuchstag die Grenze von 15 %, bedingt durch die hohen Ausgangswerte der einzelnen Tiere.

Im übrigen streuen sie zwischen dem Maximalpunkt 14,0 % an S/F_1 und dem niedrigsten Wert 8,9 % an S/F_7 , ohne irgendwelche nennenswerte Besonderheiten zu zeigen.

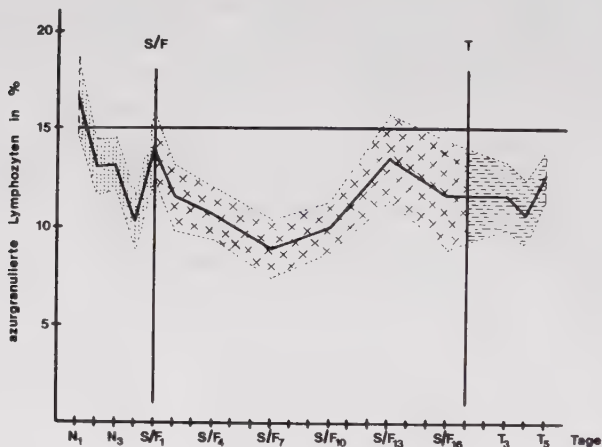


Abb. XXI

3. Statistische Auswertung

3.1. Methode

Die Prüfung der statistischen Auffälligkeit oder Signifikanz wurde mit Hilfe der Rangvarianzanalyse nach FRIEDMANN vorgenommen. Dabei handelt es sich um einen parameterfreien Vergleich von abhängigen Stichproben.

An dieser Stelle sei Herrn Dr. Schreiber vom ISB für die Beratung bei der Auswahl des Testes und für die Bereitstellung der Rechenautomaten sehr herzlich gedankt.

Für den Test mußten sogenannte Phasen (Mittelwerte) für jedes Tier geschaffen werden. Dazu wurden die Ergebnisse der Lymphozytenzählung an den einzelnen, aufeinanderfolgenden Tagen möglichst sinnvoll zusammengefaßt. Dies geschah nach Maßgabe der Zeiten, die bei der Spättyp-Allergie allgemein anerkannt sind (53, 104, 153, 155). Bei den toxischen Gruppen waren bei der Auswahl der Phasen eigene Überlegungen ebenso maßgebend wie die kritische Betrachtung der Einzelergebnisse.

Die Einteilung der Gruppen ist aus Tabelle 12 zu ersehen. Wichtig ist dabei noch der Hinweis, daß keineswegs jede Phase immer die gleiche Anzahl von Tagen aufweisen muß; so wurden beispielsweise in der Gruppe V die Auslösereaktion und der Booster-Effekt nochmals in zwei Phasen unterteilt, da es von den Ergebnissen her so schien, als seien die Werte an den ersten beiden Tagen durch einen Abfall gekennzeichnet und würden erst am 3. Tag einen deutlichen Anstieg verzeichnen.

Die beiden Untergruppen der Versuchsreihe I wurden ebenfalls einzeln geprüft.

Nach Errechnung der Mittelwerte bzw. Phasen der einzelnen Tiere wurden die verschiedenen Gruppen jeweils dem oben genannten Test unterzogen, wobei die Phasen miteinander verglichen wurden. Dabei wurde nur eine einseitige Prüfung vorgenommen.

Anzahl der Tiere	Gruppen				
	I bis IV	V	VI	VII	VIII
	je 10	10	8	10	8
Phase 1	- 8 bis - 5	N ₁ bis N ₄	N bis S ₇	N ₁ bis N ₄	N ₁ bis N ₄
Phase 2	- 4 bis - 1	S ₁ bis S ₄	S ₁₀ bis S ₁₆	F ₁ bis F ₇	S/F ₁ bis S/F ₇
Phase 3	0 bis + 4	S ₅ bis S ₁₀	T ₃ bis F ₄	F ₁₀ bis F ₁₆	S/F ₁₀ bis S/F ₁₆
Phase 4	+ 5 bis + 10	S ₁₁ bis S ₁₆	F ₇ bis F ₁₆	S ₁ bis S ₇	T ₃ bis T ₅
Phase 5	+ 11 bis + 16	T ₁ bis T ₂	T ₃ bis T ₅	S ₁₀ bis S ₁₆	
Phase 6		T ₃ bis T ₅		T ₃ bis T ₅	
Phase 7		T ₂₇ bis T ₂₉			
Phase 8		E ₁ bis E ₂			
Phase 9		B ₃ bis B ₅			

Tab.12: Auszählungstage in Phasen

3.2. Ergebnisse

Keine statistische Auffälligkeit ergibt sich bei den Gruppen I, VII und VIII.

Statistisch auffällig im Sinne eines Abfalls der azurgranulierten Lymphozyten ($p < 0,05$) ist der Unterschied zwischen Phase 1 und 4 bei der Gruppe II.

Ebenfalls statistisch auffällig im Sinne eines Anstiegs der Prozentzahlen an interessierenden Lymphozyten ($p < 0,025$) ist die Differenz zwischen Phase 2 und 3 und Phase 2 und 4 bei Gruppe III.

Statistisch signifikant ($p < 0,005$) ist bei Gruppe IV das Ergebnis der Phasen 1 und 4 zueinander.

Allerdings sind die eben erwähnten Ergebnisse aus folgendem Grund nicht brauchbar: Um den Wert der Auszählungsmethode zu verbessern, wurden nämlich die Normalwerte bei den ersten 4 Gruppen nochmals in zwei Phasen eingeteilt (Tab. 12). Da die oben angeführte statistische Auffälligkeit bzw. Signifikanz nur einen dieser beiden Werte beinhaltet, muß logischerweise ein Unterschied zwischen der Normalphase und der entsprechenden Behandlungsphase verneint werden. Somit ergeben sich auch bei den Gruppen II, III und IV keine statistisch nennenswerten Veränderungen.

Eindeutig als statistisch auffällig erweist sich dagegen der Unterschied zwischen Phase 1 und 3 bei der Gruppe VI. Obwohl hier nur 8 Tiere verwendet werden konnten - ebenso wie bei Gruppe VIII -, ist die Rangdifferenz mit 16,0 zwar geringfügig, aber dennoch klar über der für $p < 0,05$ erforderlichen kritischen Rangdifferenz von 15,6; d.h. zwischen Normalphase und Auslösereaktion besteht statistische Auffälligkeit. Ein Unterschied zwischen Phase 1 und 5 wird mit einer Rangdifferenz von 15,0 nur knapp verfehlt.

Ein klares Resultat liefert der Test auch bei Gruppe V. Die einzelnen Rangdifferenzen sind in Tabelle 13 gegenübergestellt. Hervorgehoben sind dabei die hoch signifikanten Rangdifferenzen ($p < 0,005$). Die Tabelle zeigt, daß der Booster-Effekt mit seinen beiden Phasen sich von Phase 1 bis einschließlich Phase 5 unterscheidet, wenn auch nicht immer signifikant. Eine Ausnahme bildet nur Phase 4, die zwar gegenüber Phase 9, jedoch nicht gegenüber Phase 8 auffällig verringert ist ($p < 0,025$). Dies spricht dafür, daß in Phase 5, also an den Tagen T_1 und T_2 , doch ein gewisser Abfall an azurgranulierten

Lymphozyten zu verzeichnen ist; denn hier wird das Ergebnis wieder statistisch auffällig (Phase 8) bzw. signifikant (Phase 9).

Damit ist bewiesen, daß sich der Booster-Effekt von der Normalphase und von den ersten beiden Tagen der Testreaktion deutlich unterscheidet.

Phasen	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1		7,5	0,0	14,5	5,0	22,0	29,0	45,0	52,5
2			7,5	7,0	2,5	14,5	21,5	37,5	45,0
3				14,5	5,0	22,0	29,0	45,0	52,5
4					9,5	7,5	14,5	30,5	38,0
5						17,0	24,0	40,0	47,5
6							7,0	23,0	30,5
7								16,0	23,5
8									7,5
9									

Kritische Rangdifferenz für $p = 0,050$: 35,0
 $p = 0,025$: 38,0
 $p = 0,005$: **44,0**

Tab. 13: Rangdifferenzen der Gruppe V

VI. Diskussion

1. Lysosomen bei allergischen Hauterscheinungen

Die meisten Untersuchungen, die über diese Zellorganellen gemacht werden, beschäftigen sich mit den Lysosomen der Epidermiszellen bzw. mit denen der Makrophagen. So schildern MEDENICA und ROSTENBERG das Auftreten sekundärer Lysosomen in Epidermis und Makrophagen beim allergischen Kontaktekzem (100), SMITH et al. berichten vom Auftreten lysosomaler Enzyme bei blasigen Hauterscheinungen (145), eine italienische Studie beschäftigt sich mit dem Verschwinden lysosomaler Enzyme 48 Stunden nach Durchführung eines Epikutantests mit Kaliumdichromat (131), während eine polnische Untersuchung die verringerte Aktivität der lysosomalen sauren Hydrolasen der Meerschweinchenleukozyten bei der Spättyp-Allergie zum Thema hat (113).

Japanische Autoren befassen sich vor allem mit Dinitrochlorphenylkonjugaten und DNCB-Mikrosomen-Komplexen, wobei sie diesen Mikrosomen eine entscheidende Rolle als immunogene Trägerstoffe im System der Kontaktallergie zubilligen (107, 108). Die Mikrosomen, die bekanntlich durch Fraktionierung gewonnen werden, enthalten neben den Lysosomen vor allem die intrazellulären, proteinbildenden Strukturen wie Ribosomen und das sogenannte Ergastoplasma (64, 152).

MAGNUS vermutet schließlich, daß die Freisetzung der mit den Lysosomen verbundenen hydrolytischen Enzyme für die Photosensibilisierung der Haut durch Porphyrine und andere Sensibilisatoren von entscheidender Bedeutung ist. Wahrscheinlich werden dadurch die chemischen Vermittler der Hautschädigung bei den Porphyrinpatienten ausgelöst (93).

Ein russischer Bericht, der von erhöhter Aktivität von DNase und RNase bei Sensibilisierung von Meerschweinchen mit Pferdeserum spricht und feststellt, daß die Reaktionsfreudigkeit dieser Enzyme bei spezifischer Desensibilisierung mit dem Pferdeserum in entsprechenden Dosen und bei Behandlung mit unspezifischen Desensibilisatoren wie Prednisolon und Novocain absinkt, beendet den kurzen Überblick über die Veröffentlichungen zum Thema der epidermalen Lysosomen bei allergischen Erscheinungen (20). Die Enzyme DNase und RNase finden sich nämlich in großer Menge in den Lysosomen.

Die Literatur, die sich mit den Lysosomen der Lymphozyten beschäftigt, ist vergleichsweise gering. SCHÖPF bestätigt, daß sich stimulierte

Lymphozyten u.a. durch charakteristisch biochemische Veränderungen auszeichnen wie z.B. durch Anstieg des cAMP-Gehalts, Zunahme der Permeabilität lysosomaler Membranen mit Austritt lysosomaler Enzyme ins Zytoplasma und Aktivitätssteigerung der DNA- und RNA-Polymerase (137). KLARE berichtet von azurophiler Granulation mononukleärer Zellen, die im Rebuck-Hautfenstertest besonders deutlich bei der Spätreaktion auftritt (71).

Daneben existieren die genannten lichtmikroskopischen Untersuchungen über den Anstieg der azurgranulierten Lymphozyten bei DNCB-Kontakt-ekzem (78) bzw. bei Zunahme spezifischer Antikörper, insbesondere bei enteralen Infektionen. Hier wird auch bereits darauf hingewiesen, daß die Lokalisation der Azurgranula im Bereich des Ergastoplasmas eine Beziehung zu den im Zytoplasma verteilten Ribonukleoproteinen vermuten läßt (32).

2. Ergebnisse der eigenen Untersuchungen

Aufbauend auf die letzten Beobachtungen wurden die azurgranulierten Lymphozyten bei rein toxischen Hautreaktionen nach Behandlung mit Kohlensäureschnee, UV-Strahlen und Trichloressigsäure sowie bei DNCB-Kontakt-ekzem und bei peroraler Desensibilisierung mit DNCB untersucht.

Zunächst muß festgestellt werden, daß die Hautreaktion in keiner der allergischen und toxischen Gruppen eine Korrelation mit den azurophilen Granula der Lymphozyten zeigt. Hier herrscht Übereinstimmung mit einigen Autoren, die bei anderen Parametern, wie Antikörpertiter oder Grad der Makrophagen-Migrationshemmung, keine Verbindung mit der Stärke der Hauteffloreszenzen herstellen konnten (17, 135). Die Hautreaktion läuft damit nicht unbedingt parallel mit der Empfindlichkeit anderer Gewebe und Zellen.

In den toxischen Gruppen traten bei allen Meerschweinchen gegenüber dem Normalbild so starke Hautveränderungen auf, daß damit eine heftige toxische Dermatitis bei diesen Tieren bewiesen ist. Dagegen zeigte sich nur bei den UV-behandelten Tieren bereits ab Behandlungstag ein klarer Anstieg der Lymphozytengranula, der auch nach 16 Tagen noch deutlich zu bemerken war. Das Ergebnis ist zwar nicht statistisch auffällig oder gar signifikant, doch ist der Aufwärtstrend aus den

Mittelwerten einwandfrei zu ersehen. Damit dürfte feststehen, daß die azurophilen Granula bei toxischen Reaktionen verschiedener Art keinen starken Anstieg verzeichnen. Der vergleichsweise geringe Anstieg bei Dermatitis solaris widerspricht dem nicht. Die Vermehrung dieser Zellorganellen ist somit eine spezifische Reaktion auf ein Allergen.

Bei der rein mit DNCB behandelten Versuchsreihe ergab sich nämlich ein klarer Anstieg, der sogar statistisch signifikant wurde, als die Tiere nach etwa 4 Wochen einem Booster-Effekt unterzogen wurden. Bei der ersten Auslösereaktion kam diese Feststellung noch nicht so deutlich zum Ausdruck. Das lag sicher zum Teil an den überdurchschnittlich hohen Ausgangswerten der Tiere. Zum andern finden sich in der Literatur Hinweise, daß die ein- oder zweimalige Einführung sonstiger Antigene, beispielsweise von Tuberkelbakterien, bei Meer-schweinchen keine ausgeprägte Empfindlichkeit von Blutzellen (neutrophilen Granulozyten) gegen Tuberkulin hervorruft, obwohl die Hautreaktion auf das Allergen klar positiv wird, was ja auch beim vorliegenden DNCB-Ekzem der Fall war (28).

Daher sind die früher gemachten Erfahrungen, die einen signifikanten Anstieg der azurgranulierten Lymphozyten schon bei der ersten Testreaktion erkennen ließen (78), wohl darauf zurückzuführen, daß bei diesen Experimenten zum Zwecke der Sensibilisierung teilweise bis zu 10 Tage lang das DNCB aufgepinselt wurde; sicher wurde damit - jedenfalls bei einigen Tieren - schon eine Auslösereaktion hervorgerufen. Die vom Autor dann vorgenommene "Auslösereaktion" dürfte sich bereits als Booster-Effekt ausgewirkt haben.

Es soll jedoch nicht gelehnet werden, daß auch die vorliegenden Untersuchungen, die sich von den üblichen dadurch unterscheiden, daß jeweils nur ein einmaliger Kontakt der Tiere mit dem Allergen zustande kam, einen Anstieg der Granula während der Sensibilisierungsphase andeuten. Bei einer der beiden Gruppen (Gruppe VI) läßt sich sogar eine statistische Auffälligkeit zwischen dem Zeitraum vor der Behandlung und dem Zeitpunkt der Auslösereaktion feststellen. Auch die Kombination der beiden Gruppen, die zu Beginn die gleiche sensibilisierende Behandlung erfahren hatten, zeigt - zumindest graphisch - ein Ansteigen der Prozentwerte (Abb. XVIII).

Interessant ist ferner die Tatsache, daß ein teilweise statistisch nachweisbarer Unterschied zwischen den ersten beiden und den übrigen

Tagen der Testreaktion besteht. Das läßt einen Abfall der Granula und damit einen Verbrauch dieser Strukturen zu Beginn der Auslöse-reaktion vermuten.

Sicher ist nach den Versuchen jedoch, daß die neue Methode (Fixierung der DNCE-Salbe mit Pflaster) ebenso zu einer deutlichen Reaktion der azurgranulierten Lymphozyten führt, wie das die bisherige Methode (Aufpinseln der DNCE-Lösung) bewirkte.

Die Auszählung der azurgranulierten Lymphozyten ist somit in jedem Falle geeignet, eine Sensibilisierung schnell und einfach festzustellen, was bisher nur durch die subjektive Beurteilung der Hautreaktion oder durch die wesentlich kompliziertere histologische Untersuchung möglich war. Es muß aber auch betont werden, daß hierzu einmal eine Anzahl von Normalwerten und zum andern einige Werte nach der Behandlung erforderlich sind. Die hohe Streuung der Versuchswerte zeigt nämlich, daß durch einen einmaligen Ausstrich keine Aussage darüber getroffen werden kann, ob ein Individuum nun gegen ein Allergen sensibilisiert ist oder nicht.

Damit eignet sich diese Methode nur bedingt für eine Auswertung in der täglichen Praxis. In der Regel sucht ein allergischer Patient doch erst dann den Arzt auf, wenn er nach mehrmaligem Kontakt mit dem Allergen Hauteffloreszenzen bekommen hat; er wird also bereits eine sehr hohe Prozentzahl an azurgranulierten Lymphozyten aufweisen. Sollte er aber an und für sich sehr hohe Normalwerte zeigen, ist die allergische Genese zumindest fraglich.

Die Tiere der vorliegenden Versuchsgruppen beweisen, daß der Fall der hohen "normalen" Prozentzahlen nicht gerade selten auftritt; von 80 Meerschweinchen waren es rund 12 Tiere, das sind immerhin 15 %. Sofern man denselben Prozentsatz mit einiger Vorsicht auf die Menschen überträgt und sich allein auf diese Methode verläßt, ist die Zahl der Fehldiagnosen eindeutig zu hoch.

Da also hohe Normalwerte häufig vorkommen, muß man die Qualität der angewandten Methode in Frage stellen. Zwar lagen die Normalwerte der Tiere durch alle Gruppen hindurch mit 9 % deutlich im Bereich der von der Literatur angegebenen Norm, doch ist das nur darauf zurückzuführen, daß auch einige Tiere mit sehr niedrigen Prozentzahlen beteiligt waren. Aus diesen Gründen kann man die Methode ausschließlich bei experimentellen Untersuchungen anwenden, die

eine möglichst schnelle und unkomplizierte Feststellung einer allergischen Reaktion erfordern, und bei denen sich eine entsprechende Anzahl von Werten ohne weiteres gewinnen läßt.

Im folgenden soll die Lymphozytenreaktion der peroral desensibilisierten Tiere besprochen werden. Sie waren in 3 Gruppen eingeteilt, von denen eine zuerst sensibilisiert und getestet und dann gefüttert wurde; die zweite wurde zuerst gefüttert und dann sensibilisiert, die dritte schließlich gleichzeitig gefüttert und sensibilisiert. Abschließend wurde je Gruppe eine weitere Auslösereaktion durchgeführt.

Auf den sensibilisierenden Reiz, der hier praktisch toxisch war (72, 103), traten bei den 3 Gruppen sehr starke Hautreaktionen auf, während sie nach der Fütterung mit DNCB deutlich vermindert oder gar nicht mehr vorhanden waren.

Die Lysosomen verhielten sich ähnlich: Während sie bei der zuerst sensibilisierten Gruppe zu Beginn erwartungsgemäß anstiegen, blieben sie dann während der Fütterung und Auslösung praktisch auf demselben Niveau, ja sie konnten sogar die nach der ersten Auslösereaktion gewonnene statistische Auffälligkeit nicht mehr erreichen. Da die zweite Testreaktion aber einem Booster-Effekt gleichkam, hätten die Werte verstärkt ansteigen müssen, zumal die Tiere über das Futter weiterhin Kontakt mit DNCB hatten. Hieraus kann eine sichere Reaktion im Sinne einer Desensibilisierung konstatiert werden.

Bei der zuerst gefütterten Gruppe zeigte sich nur in der Sensibilisierungsphase ein geringfügiger Anstieg, der aber ohne jede statistische Bedeutung ist. Damit steht fest, daß die Tiere durch Füttern mit DNCB keinesfalls sensibilisiert, sondern im Gegenteil desensibilisiert werden. Andernfalls hätte nach Fütterung und Sensibilisierung beim Testen der dritte Kontakt mit dem Allergen stattgefunden, der zu einem Booster-Effekt hätte führen müssen.

Die gleichzeitig behandelte und gefütterte Gruppe zeigte überhaupt keinen Anstieg, sondern eher einen Abfall, der allerdings auch mit den hohen Ausgangswerten begründet werden kann. Dennoch läßt dieses Ergebnis die Vermutung zu, daß gleichzeitiges Füttern und Sensibilisieren mit DNCB die Lymphozytengranula an der Vermehrung hindert.

Somit ist in allen 3 Fällen der Desensibilisierung neben abgeschwächter Hautreaktion eine verringerte Beteiligung der azurgranulierten Lymphozyten anzunehmen.

3. Mögliche Theorien

Aus dem Verhalten der azurophilen Granula der Lymphozyten beim allergischen Kontaktekzem ergeben sich folgende Überlegungen:

Da Histamin in jüngerer Zeit für die allergische Spättyp-Reaktion, speziell des DNCB-Ekzems, mitverantwortlich gemacht wird (1, 185), muß es in die Überlegungen einbezogen werden. Wie bereits erwähnt, spielt es wohl kaum eine primäre Rolle, kann aber sekundär freigesetzt werden, beispielsweise vom lymph node permeability factor (181).

Hier nun dürfte das mehrfach genannte lysosomale, kationische Protein eine größere Rolle spielen. Diese erstmals von JANOFF und ZWEIFACH (58) isolierte Substanz, deren genauer chemischer Aufbau nicht bekannt ist, wurde später von KELLER (67, 68), HALL et al. (47), COFFEY und MIDDLETON (15), RANADIVE und MUIR (128) in Leukozyten festgestellt; möglicherweise soll sie einen weiteren Mechanismus der Mastzellenschädigung auslösen. Mastzellen wurden auch bei der allergischen DNCB-Spätreaktion erst vor kurzem beschrieben (74, 79).

Damit ließe sich folgendes Modell aufstellen, das zu einer Liberie- rung des Histamins führen könnte:

Der sensibilisierte Lymphozyt kommt mit dem Antigen DNCB in Kontakt und veranlaßt eine Labilisierung seiner Lysosomenmembranen, vermutlich über eine Änderung des cAMP-Spiegels. Die Labilisierung ist bereits durch mehrere Untersuchungen gesichert (75, 109, 137); außerdem steht fest, daß sich ein antiallergischer Teileffekt der Steroide als Stabilisierung der Lysosomenmembran darstellt (29).

Das austretende Lysosomenmaterial, darunter auch die Phospholipase A, die ihrerseits zur Histaminfreisetzung führt, verursacht einen Anstieg lysosomaler Enzyme und Substanzen im Zytoplasma. Gelangen nun die Lymphozyten im Gewebe mit Mastzellen in Kontakt, was bei der Auslösephase nach ein bis zwei Tagen der Fall ist, können sie eventuell mit Hilfe ihrer angespeicherten Substanzen - wiederum über das cAMP - eine Freigabe des Histamins bewirken.

Gleichzeitig dürfte wohl eine gesteigerte Produktion lysosomalen

Materials erfolgen, die sich lichtmikroskopisch in Vermehrung und Vergrößerung der azurophilen Granula äußert. Damit wäre zum einen geklärt, warum die verstärkte Bildung der Granula in der Sensibilisierungsphase erst relativ spät zu erkennen ist; die Produktion dieser Stoffe muß erst "anlaufen". Aber auch der Abfall an den ersten beiden Tagen der Auslöserreaktion bzw. die Verminderung der lysosomalen Enzyme (47, 131) ließe sich somit verständlich machen. Zugleich wäre auch der Histaminanstieg nach 24 bis 48 Stunden erklärt.

Ist der Reaktionsmechanismus erst einmal "angelaufen", pegelt sich die Lysosomenproduktion auf einem höheren Spiegel ein, der die relativ hohen Werte vor Beginn des Boosters verstehen läßt; der Organismus kann daher auch auf einen weiteren Allergenkontakt prompt reagieren, was sich im deutlich geringeren Abfall der ersten zwei Booster-Tage zeigt.

Bleibe die Frage des Anstiegs bei der UV-Bestrahlung. Der Zeitpunkt für die vermehrte Granulabildung ist anders als bei der allergischen Ekzemreaktion. Bei der UV-Behandlung reagierten die Lymphozyten sofort, dafür aber nicht so heftig. Daß auch hier Histamin mit als Ursache für die Reaktion genannt wird, erleichtert das Verständnis. Darüber hinaus wurde bereits erwähnt, daß auch unspezifische Reize zu einer Liberierung von Enzymen - insbesondere lysosomaler Natur - führen können, die allerdings zu einem anderen Zeitpunkt stattfindet (125). Hier dürfte es sich also um eine solche Freisetzung zu einem sehr frühen Zeitpunkt handeln. Zumindest ist damit der hohe Anstieg an den ersten paar Tagen erklärt, wenn man zusätzlich die Erfahrungen von MAGNUS mit den Lysosomen von Porphyrinkranken berücksichtigt (93).

Aufgrund dieser anfänglichen Erhöhungen, die möglicherweise auch durch die momentanen Zellschädigungen auftreten, jedoch bei anderen toxischen Gruppen nicht anzutreffen sind, ließe sich ein ähnlicher Mechanismus der lysosomalen Freisetzung von Histamin annehmen, wie er bei der allergischen Reaktion zu vermuten ist. Damit würde sich die UV- von der DNCB-Behandlung nur durch den Zeitpunkt und die Stärke ihrer Maximalreaktion unterscheiden.

Gleichzeitig wäre ein aus verbrannter Mäusehaut isoliertes "Toxin" erklärt, das ein globulinartiges Protein oder Lipoproteid darstellen soll und für die toxische Wirkung verantwortlich gemacht wird (50). Es könnte sich dabei um das geschilderte kationische Protein handeln,

das KELLER als Polypeptid mit einem geringen Molekulargewicht von etwa 2 000 und einem hohen Gehalt an Arginin beschreibt (68). Diesem Stoff sollte in der Zukunft etwas mehr Aufmerksamkeit gewidmet werden.

Eine weitere Überlegung wäre, daß die azurophilen Granula in Verbindung zur Lymphokininsynthese stehen, die parallel zur Histaminfreisetzung ablaufen könnte. Da sie nämlich eine Beziehung zu den intrazellulären, proteinbildenden Strukturen, wie Ergastoplasma und Ribosomen, besitzen sollen (32), wäre ihre Beteiligung an der Mediatorbildung zumindest genauso denkbar wie die Annahme, daß sie bei der Produktion von spezifischen Antikörpern mitarbeiten. Viele Überträgersubstanzen der Spättyp-Reaktionen haben sich als noch nicht näher identifizierte Proteine dargestellt, deren Synthese in den Lymphozyten stattfindet. Hier könnten nun die lysosomalen Enzyme durch ihre hydrolytischen Fähigkeiten etwaige Vorstufen der Lymphokinine, wie sie beim Makrophagen-Migrationshemmfaktor schon vermutet werden (17), spalten und somit in die aktive Form verwandeln, ein Vorgang, der der Bildung des aktiven Insulins gleicht.

Mit demselben Mechanismus ließe sich auch die abgeschwächte Hautreaktion bei der Desensibilisierung erklären: die in geringerem Maße freigesetzten lysosomalen Substanzen spalten weniger intrazelluläres "Lymphokininogen"; dadurch werden kaum Mediatorstoffe freigesetzt, und die Hautreaktion mit ihren spezifischen Folgen unterbleibt oder fällt wesentlich schwächer aus.

Bei beiden Theorien müßte noch geklärt werden, wie der Unterschied zwischen sensibilisierender und desensibilisierender Wirkung entsteht. Dabei drängt sich der Gedanke an das cAMP förmlich auf, weil es bei stimulierten Lymphozyten deutlich erhöht ist, und die Lysosomenmembranen dieser Zellen nicht mehr stabil sind (137). Die Kombination beider Phänomene ist ohne weiteres denkbar, zumal cAMP ja äußerst membranaktiv ist und gemeinhin auch als der intrazelluläre "messenger" bezeichnet wird. Dies würde ferner der Beobachtung Rechnung tragen, daß Antigen in die Lymphozyten nicht einmal in Fragmentform eindringt; es kommt immer nur mit der Oberfläche und damit mit der Zellmembran der Lymphozyten in Berührung (110, 111).

Angenommen, ein erhöhter cAMP-Spiegel führt zu einer Labilisierung der Lysosomenmembran, und das spezifische Antigen kann diese Erhöhung

an der Zellmembran bewirken, dann wäre nur noch die Frage zu beantworten, wie die Desensibilisierung mit demselben Antigen abläuft. Eine entscheidende Rolle dürfte dabei spielen, auf welche Weise das Antigen in den Organismus gelangt. Während bei der epikutanen Sensibilisierung das DNCB sich wahrscheinlich mit einem Hautprotein verbindet - die sensibilisierende Wirkung von Dinitrochlorphenylkonjugaten und DNCB-Mikrosomen-Komplexen wurde bereits erwähnt (107, 108) - und in dieser Kombination eine Erhöhung des cAMP-Spiegels in den Lymphozyten verursacht, wird es bei der desensibilisierenden Fütterung eventuell frei, d.h. ohne jegliche Koppelung, resorbiert. Da es sich um ein vergleichsweise kleines Molekül handelt, das ja bekanntlich ein Hapten darstellt, dürfte die Resorption keinerlei Schwierigkeiten bereiten. Diese unkonjugierte Form des DNCB könnte nun an den Rezeptoren der Lymphozytenmembran eine Abnahme oder wenigstens ein Gleichbleiben der cAMP-Konzentration induzieren, was die Lysosomenmembran stabil lassen und damit die Freisetzung der lysosomalen Enzyme mit ihren Folgen verhindern würde (15).

Den gleichen Effekt könnte auch eine Konjugation des enteral aufgenommenen DNCB mit einer körpereigenen Substanz erzielen, die etwas andere Eigenschaften besitzt als das Hautprotein, an das sich DNCB bei epikutaner Applikation vermutlich bindet. Diese Kombination könnte im Sinne einer kompetitiven Hemmung am cAMP-stimulierenden Rezeptor ihre Wirkung ausüben, da es Hinweise gibt, daß zumindest beim Menschen eine bestimmte Menge an DNCB per os aufgenommen werden muß, um eine sichtbare Verminderung der Hautreaktion zu erreichen (89).

Auf jeden Fall sollten die eventuellen Beziehungen zwischen cyclo-AMP, lysosomalen Substanzen, Histamin und Mediatoren der Spättyp-Reaktion weiter in Augenschein genommen werden, da sich hier vielleicht eine Chance bietet, der Pathogenese des allergischen Kontaktekzems auf zellulärer Basis entscheidend näher zu kommen.

VII. Zusammenfassung

Aufbauend auf vorangegangene Untersuchungen, bei denen sich Beziehungen zwischen den Lysosomen und ihren Inhaltsstoffen einerseits und dem allergischen Kontaktekzem andererseits ergaben, wird an den Anfang dieser Arbeit eine kurze Übersicht über die derzeit diskutierten Mediatorsubstanzen der allergischen Soforttyp- und Spättyp-Reaktionen sowie über ihre etwaigen Korrelationen zu den lysosomalen Substanzen gestellt.

Anschließend werden eigene Untersuchungen geschildert, die auf der früher getroffenen Feststellung basieren, daß bei allergischem Kontaktekzem die azurophilen Granula der Lymphozyten, die mit den Lysosomen gleichgesetzt werden, im Laufe der Ekzementwicklung sowohl in der einzelnen Zelle als auch prozentual in der Zellpopulation ansteigen. Dabei sollte festgestellt werden, ob es sich um ein spezifisch allergisches Phänomen handelt, oder ob dieser Anstieg ein unspezifisches Zeichen der Entzündung ist, der auch bei rein toxischer Dermatitis auftritt.

Zur Erzeugung einer toxischen Hautreaktion wurden deshalb 3 Gruppen mit je 10 Meerschweinchen gebildet, von denen eine Gruppe mit Kohlendäureschnee, eine mit UV-Strahlen und eine mit Trichloressigsäure behandelt wurde. Von den Tieren wurden dann Blutaussstriche gewonnen, nach MAY-GRÜNWARD-GIEMSA gefärbt und lichtmikroskopisch auf ihren Gehalt an azurgranulierten Lymphozyten untersucht. Hierbei ergab sich ausschließlich bei der UV-Gruppe ein deutlicher Anstieg, der aber statistisch nicht relevant war; bei den übrigen zwei Gruppen zeigten sich keine Veränderungen. Bei allen Versuchsreihen traten jedoch sehr starke Hautreaktionen auf.

Dagegen wiesen 10 Tiere, die nur epikutan mit DNCB sensibilisiert waren, und deren Ausstriche nach derselben Methode beurteilt wurden, 4 Wochen nach der Auslösereaktion (Booster-Effekt) - analog der Stärke der Hauteffloreszenzen - einen hoch signifikanten Anstieg der azurgranulierten Lymphozyten auf ($p < 0,005$). Für den Epikutan-test fand eine neue Methode Verwendung, bei der das DNCB in Salbenform aufgetragen wurde.

Ferner wurden 3 Gruppen mit je 10 Tieren gebildet, die Tiere auf unterschiedliche Weise mit DNCB peroral desensibilisiert, und ihre

granulierten Lymphozyten untersucht. Die erste Gruppe wurde zuerst mit DNCB sensibilisiert, ausgelöst und dann gefüttert; die zweite Gruppe wurde zuerst mit DNCB gefüttert und dann sensibilisiert, die dritte Gruppe gleichzeitig mit DNCB sensibilisiert und gefüttert. Am Ende wurde je Gruppe eine weitere Auslösereaktion durchgeführt. Alle 3 Gruppen wiesen dabei statistisch keine bemerkenswerten Unterschiede in ihren Lymphozytengranula auf. Auch die Hautreaktionen waren gering oder überhaupt nicht vorhanden.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen läßt den Schluß zu, daß die azuro-philten Granula der Lymphozyten eine spezifische Rolle beim allergischen DNCB-Kontaktekzem spielen. Sie vermehren und vergrößern sich in der einzelnen Zelle und in der Zellpopulation, während sich ihre Zahl bei toxischer Dermatitis und peroraler Desensibilisierung mit DNCB nur geringfügig oder gar nicht erhöht.

Die Bedeutung des lichtmikroskopischen Suchtests für die tägliche Praxis wird allerdings in Frage gestellt, weil sich bei der Untersuchung von jeweils nur 100 Lymphozyten die Streubreite der Werte beim einzelnen Tier als zu groß erweist.

Im letzten Teil der Arbeit wird die Funktion der Granula in der Pathogenese des Kontaktekzems diskutiert. Dabei wird die Vermutung geäußert, daß sie an der Freisetzung von Histamin durch ein lysosomales, kationisches Protein oder an der Bildung der Mediatorsubstanzen der Spättyp-Allergie (Lymphokinine) beteiligt sind. Ihre Aktivierung bei der Ekzementwicklung bzw. ihre reduzierte Aktivität bei der Desensibilisierung wird durch eine Theorie erklärt, bei der das cyclische AMP als intrazellulärer Mittler zwischen Antigen und Lysosomen auftritt und die lysosomale Membran dabei labilisiert bzw. stabilisiert.

VIII. Literatur

1. AOKI K., SAITO T.: Contact dermatitis and histamine. Jap. J. Derm., Ser. B, 82, 33 (1972)
2. ATKINS P., GREEN G.R., ZWEIMAN B.: Histologic studies of human skin test responses to ragweed, compound 48/80, and histamine. J. Allergy 51, 263 (1973)
3. BANDMANN H.-J.: Kontaktekzem und Ekzematogene. Münch. med. Wschr. 109, 1572 (1967)
4. BANDMANN H.-J., DOHN W.: Die Epicutantestung. Bergmann, München 1967
5. BELL G.N.: Is histamine bound by serum proteins? Int. Arch. Allergy 25, 249 (1964)
6. BLÄKER F., GROB P.J., HELLWEGE H.H., SCHULZ K.H.: Immunabwehr und Transfer-Faktor-Therapie bei chronischer granulomatöser Candidiasis. Dtsch. med. Wschr. 98, 415 (1973)
7. BLOOM B.R.: A potential method for enumerating antigen-sensitive cells in delayed hypersensitivity. Int. Arch. Allergy 41, 91 (1971)
8. BORELLI S.: Allergologie aus dermatologischer Sicht. Mkurse ärztl. Fortbild. 21, 301 (1971)
9. BORELLI S., MICHAÏLOV P., ENE-POPESCU C.: Die Veränderungen der allergisch-mediatorischen Reaktivität bei Neurodermitis-constitutionalis-Kranken nach Höhenklimatherapie. Hautarzt 18, 456 (1967)
10. BOZHKOV B.: Die in-vitro-Histaminfreisetzung aus sensibilisierten Geweben als diagnostischer Test bei allergischen Erkrankungen. Allergie u. Asthma 15, 344 (1969)
11. BOZHKOV B.: In vitro laboratory methods for identification of clinical hypersensitivity. Derm. i Vener. (Sofia) 9, (1970)
12. BROSTOFF J., ROITT I.M.: Cell-mediated (delayed) hypersensitivity in patients with summer hay-fever. Lancet 1969, II, 1269
13. CLAUDY A., THIVOLET J.: Contrôle in vitro de l'hypersensibilité retardée à la pénicilline chez la souris par le test d'inhibition de la migration des macrophages. Ann. Derm. Syph. (Paris) 98, 322 (1971)
14. COCHRANE C.G.: Mediators of the Arthus and related reactions. Progr. Allergy 11, 1. Karger, Basel/New York 1967
15. COFFEY R.G., MIDDLETON E.jr.: Release of histamine from rat mast cells by lysosomal cationic proteins. Possible involvement of adenylylase cyclase and adenosine triphosphatase in pharmacologic regulation. Int. Arch. Allergy 45, 593 (1973)
16. COMAISH J.S.: The role of the mast cells and basophils in hypersensitivity. Brit. J. Derm. 77, 92 (1965)

17. DAVID J.R., DAVID R.R.: Cellular hypersensitivity and immunity. Inhibition of macrophage migration and the lymphocyte mediators. *Progr. Allergy* 16, 300. Karger, Basel 1972
18. DELESCLUSE J., TURK J.L.: La cytotoxicité lymphocytaire dans l'eczéma de contact. *Arch. belges Derm.* 27, 241 (1971)
19. DOCKHORN R.J.: Topical heparin in the treatment of eczema. *Ann. Allergy* 28, 573 (1970)
20. DREGALINA A.A.: The effect of sensitization and desensitization on the activity of deoxyribonuclease and ribonuclease in the skin of animals. *Vestn. Derm. Vener. (Mosk.)* 46, Nr. 8, 30 (1972)
21. DUMONDE D.C., MAINI R.N.: The clinical significance of mediators of cellular immunity. *Clin. Allergy* 1, 123 (1971)
22. EBERHARTINGER C.: Nachweis einer Kontaktallergie. *Wien. klin. Wschr.* 76, 568 (1964)
23. FAZEKAS I.G., KOSA F., VIRAGOS-KIS E., BASCH A.: Freier und Gesamthistamingehalt der Haut nach experimentell hervorgerufenen Verbrennungen. *Z. Rechtsmed.* 72, 203 (1973)
24. FELARCA A.B., LOWELL F.C.: Failure to elicit histamine eosinophilotaxis in the skin of atopic man. Description of an improved technique. *J. Allergy* 41, 82 (1968)
25. FILIPP G.: Die immunochemische Neutralisation der biologisch aktiven Substanzen. In: *Pathogenese und Therapie allergischer Reaktionen*. Enke, Stuttgart 1966
26. FLAX M.H., CAULFIELD J.B.: Cellular and vascular components of allergic contact dermatitis. Light and electron microscopic observations. *Amer. J. Path.* 43, 1031 (1963)
27. FORTEZA-VILA J., FLAD H.-D., HOCHAPFEL G.: Ultrastructure of lymphocytes and macrophages in the migration-inhibition test (MIT). *J. reticuloendoth. Soc.* 11, 539 (1972)
28. FRADKIN V.A.: Über Untersuchungen zum Index der Neutrophilenschädigung (INS-Test). *Allergie u. Asthma* 16, 171 (1970)
29. FRICHOT III B.C., ZELICKSON A.S.: Steroids, lysosomes and dermatitis. An ultrastructural study. *Acta derm.-vener. (Stockh.)* 52, 311 (1972)
30. GIERTZ H.: Bildung und Freisetzung biologisch aktiver Substanzen unter besonderer Berücksichtigung des Histamins. In: *Pathogenese und Therapie allergischer Reaktionen*. (Hrsg. G. Filipp). Enke, Stuttgart 1966
31. GILLISSEN G., BREINING H.: Untersuchungen über den Mechanismus der allergischen Spätreaktion. VII. Die funktionelle Beziehung zwischen LNPF (lymph node permeability factor) und Histonen. *Ärztl. Forsch.* 23, 263 (1969)
32. GLEISS J.: Azurgranulierte Lymphozyten als hämatomorphologischer Nachweis von Antikörper. *Münch. med. Wschr.* 19, 1081 (1969)
33. GÖZSY B., KATO L.: Role of mast cells in the inflammatory defense mechanism in the skin of rats. *Dermatologica* 133, 216 (1966)

34. GRAEBNER K.: Klinische und experimentelle Studien mit dem Antihistaminikum Tavegil an dermatologischem Krankengut. Wien. klin. Wschr. 82, 625 (1970)
35. GREAVES M.W.: Recent immunopharmacological developments in immediate hypersensitivity reactions. Acta derm.-vener. (Stockh.) 50, Suppl. 64 (1970)
36. GREAVES M.W., SØNDERGAARD J.: A new pharmacological finding in human allergic contact eczema. Arch. Derm. (Chicago) 101, 659 (1970)
37. GREBENNIKOV V.A., TELEGINA S.A., ANTIPOV V.N.: On serotonin content in the skin of patients with neurodermatitis. Vestn. Derm. Vener. (Mosk.) 46, Nr. 10, 26 (1972)
38. GREBENNIKOV V.A., TELEGINA S.A., OLSHANSKY V.M.: Comparison of some parallels in serotonin metabolism in patients with disseminated neurodermatitis. Vestn. Derm. Vener. (Mosk.) 47, Nr. 4, 20 (1973)
39. GREBENNIKOV V.A.: Investigation of the blood bradykinogen in patients with disseminated neurodermatitis. Vestn. Derm. Vener. (Mosk.) 47, Nr. 9, 29 (1973)
40. GREBENNIKOV V.A.: On the status of the parasympathetic nervous system in patients with neurodermatitis. Vestn. Derm. Vener. (Mosk.) 48, Nr. 2, 40 (1974)
41. GREBENNIKOV V.A.: Kininase activity in the blood of patients with disseminated neurodermatitis. Vestn. Derm. Vener. (Mosk.) 48, Nr. 8, 23 (1974)
42. GÜNTHER O.: Grundlagen der Immunologie. I. Teil: Immunsystem, Makrophagenresistenz, Antigen. Dtsch. Ärzteblatt 68, 1308 (1971)
43. GÜNTHER O.: Grundlagen der Immunologie. II. Teil: Antikörperstruktur und -funktion; Spätreaktion. Dtsch. Ärzteblatt 68, 1983 (1971)
44. GUIRGIS H.M.: The binding of histamine by normal and allergic human serum. J. Allergy 43, 255 (1969)
45. HADDING U.: Das Komplement: Vermittlungssystem für humorale Abwehrleistung und allergische Entzündung. Hautarzt 23, 1 (1972)
46. HAHN F., KRETZSCHMAR R., TESCHENDORF H.J., MITZE R.: Role of histaminase (diamine oxidase) in disappearance of plasma histamine in anaphylaxis and after histamine injection. Int. Arch. Allergy 39, 449 (1970)
47. HALL J.H., SMITH J.G.jr., BURNETT S.C.: The lysosome in contact dermatitis: a histochemical study. J. invest. Derm. 49, 590 (1967)
48. HALPERN B.N.: Die synthetischen Antihistaminika. In: Pathogenese und Therapie allergischer Reaktionen (Hrsg. G. Filipp). Enke, Stuttgart 1966
49. HANSON H.: Über die Serotoninopexie bei allergischen Erkrankungen. Allergie u. Asthma 16, 144 (1970)

50. HARDER F.: Zur Charakterisierung der "Toxine" aus verbrannter Mäusehaut. Z. ges. exp. Med. 145, 209 (1968)
51. HOIGNE R.: The pathogenesis of allergic inflammation. Int. Z. klin. Pharm. 5, 171 (1971)
52. HUGHES D., PATY D.W.: Macrophage migration inhibition test applied to delayed hypersensitivity in man. I. A mixed lymphocyte reaction between human and guinea-pig lymphocytes demonstrated using a sensitive micro-capillary method. Z. Immun.-Forsch. 142, 478 (1972)
53. HUNZIKER N.: Experimental eczema. XXI. Alkaline phosphatase in eczema of the guinea pig treated with dinitrochlorobenzene. Dermatologica 129, 359 (1964)
54. Inderbitzin T.: Experimentelle Untersuchungen der entzündlichen Hautreaktion. Dermatologica 133, 1 (1966)
55. ISHIZAKA K., ISHIZAKA T.: The significance of immunoglobulin E in reaginic hypersensitivity. Ann. Allergy 28, 189 (1970)
56. ITOIZ M.E., FRASCH A.C.C., VOLCO H.E., KLEIN-SZANTO A.J.P.: Microspectrophotometric study of acid phosphatase activity in irradiated squamous epithelium. Strahlentherapie 147, 643 (1974)
57. JANKOVIC B.D., ISAKOVIC K.: Neuro-endocrine correlates of immune response. I. Effects of brain lesions on antibody production, Arthus reactivity and delayed hypersensitivity in the rat. Int. Arch. Allergy 45, 360 (1973)
58. JANOFF A., ZWEIFACH B.W.: Production of inflammatory changes in the microcirculation by cationic proteins extracted from lysosomes. J. Exper. Med. 120, 747 (1964)
59. JUHLIN L.: Localization and content of histamine in normal and diseased skin. Acta derm.-vener. (Stockh.) 47, 383 (1967)
60. JUHLIN L., MICHAELSSON G.: Vascular reactions in urticaria. Brit. J. Derm. 82, Suppl. Nr. 5, 66 (1970)
61. KABOTH W., BEGEMANN H.: Blut. In: Physiologie des Menschen (Hrsg. O.H. Gauer, K. Kramer, R. Jung), Band 5, 56. Urban & Schwarzenberg, München/Berlin/Wien 1971
62. KAISER W., PREUSS E.-G.: Klinische und pharmakologische Untersuchungen zur Frage der Histamin-Liberation bei Kälterurtikaria. Allergie u. Asthma 14, 18 (1968)
63. KARADY S., OTTLECZ A., HORPACSY G.: Die Rolle der lysosomalen Enzyme und des Resistins im anaphylaktischen Geschehen. Allergie u. Asthma 14, 149 (1968)
64. KARLSON P.: Topochemie der Zelle. In: Kurzes Lehrbuch der Biochemie. Thieme, Stuttgart 1972
65. KATZ S., DE BETZ B.H., ZALAS N.: Production of macrophage inhibitory factor by patients with leprosy. Arch. Derm. (Chicago) 103, 358 (1971)
66. KEINING E., BRAUN-FALCO O.: Dermatologie und Venerologie. Lehmanns, München 1969

67. KELLER R.: Zum Mechanismus der Mastzellschädigung bei akuten allergischen Reaktionen. *Med. Welt, N.F.* 19, 1513 (1968)
68. KELLER R.: Present status of biochemical and pharmacological analysis of secondary cellular damage in antibody-mediated allergic reactions. *Int. Arch. Allergy* 36, 56 (1969)
69. KIKUCHI S.: Studies of serotonin in skin diseases. *Jap. J. Derm., Ser. B*, 79, 76 (1969)
70. KIRTCHEV P., FRANKLAND A.W.: The histamine binding power of human serum from allergic and non-allergic subjects. *Acta allerg. (Kbh.)* 20, 153 (1965)
71. KLARE K.-H.: Über den Rebeck-Test und seine Besonderheiten bei einigen Formen des Kontaktekzems. *Dtsch. Gesundh.-Wes.* 23, 71 (1968)
72. KLEINE M.-W.: Toleranzerzeugung und Desensibilisierung bei Meerschweinchen durch orale Applikation des Allergens 2,4-Dinitrochlorbenzol (DNCB). Inaugural-Dissertation, Universität München 1977
73. KLIGMAN A.M.: The identification of contact allergens by human assay. II. Factors influencing the induction and measurement of allergic contact dermatitis. *J. invest. Derm.* 47, 375 (1967)
74. KNAPP A., GROSSER V., TOLKSDORF G.: Experimentelle Untersuchungen zur Zahl der Mastzellen bei der allergischen Spätreaktion in der menschlichen Haut (Vorläufige Mitteilung). *Derm. Mschr.* 160, 6 (1974)
75. KNOP G., RUPEC M.: Die Beeinflussung des experimentellen Ekzems durch Vitamin A. *Z. Haut- u. Geschl.-Kr.* 47, 579 (1972)
76. KNOTH W., SIEDOW K., FLEISCHER E., HEINTEL-TRÖSTER U.: Zur Epicutanprobe mit einem neuartigen Testpflaster. *Z. Haut- u. Geschl.-Kr.* 43, 711 (1968)
77. KOLESOV D.V., FEDOSEEVA N.A.: The pituitary-adrenal system and some "tissue" factors of regulation in children with dermatic manifestations of allergy. *Vestn. Derm. Vener. (Mosk.)* 48, Nr. 3, 32 (1974)
78. KOLLMANN A.: Über die azurophilen Granula der Lymphozyten und ihr Verhalten bei experimentellem allergischen Kontaktekzem der Meerschweinchen. Inaugural-Dissertation, Universität München 1975
79. KONDRATIEV G.G., SERGEEV V.P.: The functional activity of mast cells in allergic reactions in the skin of animals. *Vestn. Derm. Vener. (Mosk.)* 47, Nr. 1, 43 (1973)
80. KULAGA V.V., LATYSHEVA V.V.: On studies of serotonin in some dermatic diseases. *Vestn. Derm. Vener. (Mosk.)* 44, Nr. 10, 16 (1970)
81. KULAGA V.V., LATYSHEVA V.V., TELEGINA S.A., ANTIPOV V.N.: Comparative study of the kinin system and biogenic amines in allergic vasculites of the skin. *Vestn. Derm. Vener. (Mosk.)* 48, Nr. 5, 25 (1974)

82. KUSCHINSKY G., LÜLLMANN H.: Biogene Amine. In: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. Thieme, Stuttgart 1974
83. LANDI G., MIRANDA R.: Studio statistico degli effetti dell'istamino-liberatore 48/80 e dell'istamina sulla intradermo-reazione tubercolinica. Rass. Derm. Sif. 20, 61 (1967)
84. LEE D.: Antihistamine activity of the eosinophil. J. Path. (Edinb.) 99, 96 (1969)
85. LEVIS W.R., WHALEN J.J., MILLER A.E.jr.: Studies on the contact sensitization of man with simple chemicals. II. Lymphokine production in allergic contact dermatitis to dinitrochlorobenzene. J. invest. Derm. 62, 2 (1974)
86. LEVY D.A.: Studies of histamine release from human leukocytes. Ann. Allergy 27, 511 (1969)
87. LISCHKA G., GOTTMANN-LÜCKERATH I.: Zelluläre Immunreaktion bei Pollenallergie. Hautarzt 22, 445 (1971)
88. LOGINOV A.V., SYTINSKY I.A., VOLYNASKAYA S.L.: On inhibition of allergic reactions upon multiple irritations of the skin by histamine administration. Vestn. Derm. Vener. (Mosk.) 37, Nr. 11, 20 (1963)
89. LOWNY E.D.: Suppression of contact sensitization in man by prior feeding of antigen. J. invest. Derm. 61, 90 (1973)
90. LUKJAN H., HOFMAN J., KIERSNOWSKA B., BIELAWIEC M., CHYREK-BOROWSKA S.: The kinin system in allergic states. Allergie u. Immunol. 18, 25 (1972)
91. MACHER E.: Das entzündliche Haut-Infiltrat. In: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten. Ergänzungswerk I/2, 473 (1964)
92. MACHER E.: Immunologische Mechanismen der Allergie. Z. Haut- u. Geschl.-Kr. 47, 307 (1972)
93. MAGNUS I.A.: Die Bedeutung der Lysosomen für die Photosensibilisierung der Haut durch Porphyrine und andere Sensibilisatoren. Arch. klin. exp. Derm. 237, 484 (1970)
94. MAILLARD J.L., PICK E., TURK J.L.: Interaction between "sensitized lymphocytes" and antigen in vitro. V. Vascular permeability induced by skin-reactive factor. Int. Arch. Allergy 42, 50 (1972)
95. MARGHESCU S.: Über die elektrophoretische Lokalisation der Leucin-Aminopeptidase des Serums im Agargel bei Dermatosen. Derm. Wschr. 151, 410 (1965)
96. MARGHESCU S.: Grundlagen der Immunbiologie. Fortschr. prakt. Derm. Vener. 6, 245 (1970)
97. MARGHESCU S.: Die Behandlung der akuten allergischen Kontaktdermatitis. Dtsch. med. Wschr. 96, 756 (1971)
98. MARGHESCU S., WOLFF H.H.: Allergie. In: Untersuchungsverfahren in Dermatologie und Venerologie. Bergmann, München 1975
99. MASSIE F.S., WUTANASUPTA R.: Detection of delayed hypersensitivity in ragweed pollinosis by an in vitro method. Ann. Allergy 30, 676 (1972)

100. MEDENICA M., ROSTENBERG A.jr.: A comparative light and electron microscopic study of primary irritant contact dermatitis and allergic contact dermatitis. *J. invest. Derm.* 56, 259 (1971)
101. MICHAÏLOV P.: Histamine content in the skin and in the blood. Some methods for its determination. *Derm. i Vener. (Sofia)* 4, 23 (1965)
102. MICHEL B., RUSSELL II T., WINKELMANN R.K., GLEICH G.J.: Release of kinins from site of wheal-and-flare allergic skin reactions. *Int. Arch. Allergy* 39, 616 (1970)
103. MIESCHER G.: Ekzem. Histopathologie, Morphologie, Nosologie. In: *Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten. Ergänzungswerk II/1*, 1 (1962)
104. MILLER A.E.jr., LEVIE W.R.: Studies on the contact sensitization of man with simple chemicals. I. Specific lymphocyte transformation in response to dinitrochlorobenzene sensitization. *J. invest. Derm.* 61, 261 (1973)
105. MITCHELL J.C., KRELL R.: A study of the cutaneous effects of bradykinin. *J. invest. Derm.* 43, 177 (1964)
106. NILZEN Å.: The antihistaminic effect of human eosinophils. *Allergie u. Asthma* 16, 24 (1970)
107. NISHIOKA K., AOKI T., NISHIOKA K., TASHIRO M.: Studies on carrier substances of DNCB contact allergy. *Dermatologica* 142, 232 (1971)
108. NISHIOKA K., AMOS H.E.: Contact sensitivity in vitro. The production of macrophage inhibition factors from DNCB sensitized lymphocytes by subcellular organelles obtained from DNCB epidermal tissue. *Immunology* 25, 423 (1973)
109. NITZSCHNER H., BUCHHOLZ W.: Abkürzung langwieriger Allergodermie-Verläufe durch Vitamin A. *Allergie u. Immunol.* 18, 191 (1972)
110. NOSSAL G.J.V.: Bullet and target - an analysis of antigenic stimulation. *J. invest. Derm.* 49, 358 (1967)
111. NOSSAL G.J.V.: Schicksal und Persistenz der Antigene und die Auslösung des Immungeschehens. *Triangel (Sandoz-Zeitschr. f. med. Wissenschaft)* 11, 1 (1972)
112. OKONKWO B., RUST S., STEIGLEDER G.K.: Die Verteilung der Mastzellen in der gesunden menschlichen Haut. *Arch. klin. exp. Derm.* 223, 99 (1965)
113. ONISK Z., TCHORZEWSKI H.: Investigations into lysosomal hydrolases of white cells in some autoimmune skin diseases and in experimental animals with immediate and delayed hypersensitivity. *Przegl. Derm.* 59, 601 (1972)
114. ORANGE R.P., AUSTEN K.F.: Drug-induced modulation of the immunologic release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis. *Int. Arch. Allergy* 41, 79 (1971)
115. ORZECZOWSKI G.: Histamin und Antihistamine. *Z. Therapie* 8, 193 (1970)

116. OSLER A.G.: Mechanisms of immediate allergic reactions. *Int. Arch. Allergy* 41, 49 (1971)
117. PALMINTERI G.: Ulteriore contributi sperimentali sull'antagonismo biologico fra istamina ed eparina. *Ann. ital. Derm. clin. sper.* 24, 220 (1970)
118. PAMBOR M.: Zur Unterscheidung ekzemallergischer und toxischer Hautentzündungen im Rebuck-Test. *Derm. Mschr.* 159, 806 (1973)
119. PAQUE R.E., DRAY S., KNISKERN P., BARAM P.: *In vitro* studies with "transfer factor". II. Transfer of the cell-migration inhibition correlate of delayed hypersensitivity in humans with nondialyzable components of leucocyte lysates from humans sensitized to histoplasmin and coccidioidin. *Cell. Immun.* 6, 368 (1973)
120. PARISH W.E.: Effects of neutrophils on tissues. Experiments on the Arthus reaction, the flare phenomenon, and post-phagocytic release of lysosomal enzymes. *Brit. J. Derm.* 81, Suppl. Nr. 3, 28 (1969)
121. PARROT J.-L.: Die Histaminopexie und ihre Bedeutung für die Therapie. In: *Pathogenese und Therapie allergischer Reaktionen* (Hrsg. G. Filipp). Enke, Stuttgart 1966
122. PICK E., KREJCÍ J., TURK J.L.: *In vivo* action of soluble mediators associated with cell-mediated immunity. *Int. Arch. Allergy* 41, 18 (1971)
123. PIROTH M.: Vergleich der Zellauswanderung im Rebuck-Test bei Gesunden und bei Kontaktekzematikern vor und während der epicutanen Läppchentestung. *Hautarzt* 23, 75 (1972)
124. PRASAD D.N., GAMBHIR S.S., SINGH G., BHATTACHARYA S.K., DAS P.K.: Histamine skin sensitivity and blood histamine in patients with urticaria. *Int. Arch. Allergy* 31, 230 (1967)
125. RAAB W., KAISER E.: Enzymatische Vorgänge bei der Pathogenese allergischer Reaktionen. *Klin. Wschr.* 43, 345 (1965)
126. RAAB W.: Harnenzyme bei allergischen Reaktionen. Einfluß von Pharmaka. Urban & Schwarzenberg, München/Berlin/Wien 1974
127. RADULESCU M., CAPUSAN I., SULICA V., POP C., LAZAR V., MAIER N.: Das kininbildende System bei einigen allergischen Dermatosen. *Derm.-Vener. (Bucureşti)* 17, 7 (1972)
128. RANADIVE N.S., MUIR J.D.: Similarity in the mechanism of histamine release induced by cationic protein from neutrophils and by complement dependent Ag-Ab reaction. *Int. Arch. Allergy* 42, 236 (1972)
129. REMOLD H.G., WARD P., DAVID J.R.: Characterization of migration inhibitory factor (MIF) and its separation from a chemotactic factor for monocytes. *Int. Arch. Allergy* 41, 16 (1971)
130. RENOUX M., MONTIS G. de: Le rôle de l'amp cyclique dans l'hyper-sensibilité immédiate. *Rev. franç. Allerg.* 13, 293 (1973)

131. RIBUFFO A.: Studio istochimico dei lisosomi nella epidermo-
reazione da pach-test con bicromato. *Minerva derm.*
(Torino) 43, 255 (1968)
132. ROCKLIN R.E., DAVID J.R.: Detection in vitro of cellular hyper-
sensitivity to drugs. *J. Allergy* 48, 276 (1971)
133. ROSTENBERG A.jr.: The pathogenesis of eczematous sensitization.
Acta derm.-vener. (Stockh.) 45, 1 (1965)
134. SCHADEWALDT H.: Zur Geschichte der Überträgerstoffe in der
Allergie. *Dtsch. med. Wschr.* 95, 1189 (1970)
135. SCHELL K., DANIEL K., BLAZKOVEC A.A.: Effects of anti-lympho-
cyte, anti-macrophage and anti-thymocyte serum IgG on
the immune response. II. Immediate-type and delayed-
type cutaneous hypersensitivity reactions in outbred
guinea pigs. *Int. Arch. Allergy* 41, 302 (1971)
136. SCHEPER R.J., OORT J.: Some in vitro experimental methods in
allergic contact dermatitis. *Arch. belges Derm.* 29,
59 (1973)
137. SCHÖPF E.: Reaktionsmechanismen stimulierter Lymphozyten. *Arch.*
derm. Forsch. 244, 306 (1972)
138. SCHRÖPL F., RÖCKL H., GRÜNBERG U.: Zur Problematik der passiven
Übertragung der allergischen Spätreaktion vom Ekzemtyp.
Arch. klin. exp. Derm. 225, 335 (1966)
139. SCHRÖPL F., ECKERT C.: Zur Frage des Einflusses von Heparin auf
das experimentelle DNCB-Kontaktekzem des Meerschwein-
chens. *Arch. klin. exp. Derm.* 229, 326 (1967)
140. SCHRÖPL F., ARNOLD E.: Makroskopische und histologische Befunde
bei doppelt exponierten Epicutantests. *Arch. klin. exp.*
Derm. 235, 363 (1969)
141. SCHWARTZ H.J., CATANZARO P.J., LEON M.A.: An analysis of the
effects of skin reactive factor released from lymphoid
cells by concanavalin A in vivo. *Amer. J. Path.* 63,
443 (1971)
142. SHEREFF R.H., HARWELL W., LIEBERMAN P., ROSENBERG E.W., ROBINSON H.:
Effect of beta adrenergic stimulation and blockade on
immediate hypersensitivity skin test reactions. *J. Aller-*
gy 52, 328 (1973)
143. SHERMAN W.B.: Atopic hypersensitivity (symposium). *Med. Clin. N.*
Amer. 49, 1597 (1965)
144. SILBERBERG I.: Apposition of mononuclear cells to Langerhans
cells in contact allergic reactions. An ultrastruc-
tural study. *Acta derm.-vener. (Stockh.)* 53, 1 (1973)
145. SMITH J.G.jr., CHURCH C.F., BURK P.G.: The occurrence of lyso-
somal enzymes in blister fluid. *J. Clin. Invest.* 44,
1098 (1965)
146. SØNDERGAARD J., ZACHARIAE H.: Epidermal histamine. *Arch. klin.*
exp. Derm. 233, 323 (1968)
147. SØNDERGAARD J., GREAVES M.W.: Recovery of a pharmacologically
active fatty acid during the inflammatory reaction,
invoked by patch testing in allergic contact dermati-
tis. *Int. Arch. Allergy* 39, 56 (1970)

148. SØNDERGAARD J., GREAVES M.W.: Prostaglandin E₁: effect on human cutaneous vasculature and skin histamine. *Brit. J. Derm.* 84, 424 (1971)
149. SØNDERGAARD J., GLICK D.: Quantitative histochemistry of histamine and histidine decarboxylase activity in normal human skin. *J. invest. Derm.* 56, 231 (1971)
150. SØNDERGAARD J., GLICK D.: Histidine decarboxylase activity in human allergic contact dermatitis. *J. invest. Derm.* 59, 247 (1972)
151. SORKIN E., STECHER V.J.: Significance of leucocyte chemotaxis in allergic reactions. *Int. Arch. Allergy* 41, 25 (1971)
152. SPIER H.W.: Allergie der Haut. In: *Dermatologie und Venerologie I/1*, 613 (Hrsg. H.A. Gottron, W. Schönfeld). Thieme, Stuttgart 1961
153. SPIER H.W.: Neuere Vorstellungen zur Pathogenese der allergischen Kontaktdermatitis. *Fortschr. prakt. Derm. Vener.* 6, 65 (1970)
154. STEFFEN C.: Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunpathologie sowie ihre klinische Anwendung. Thieme, Stuttgart 1968
155. STORCK H.: Immunbiologie der Haut. In: *Dermatologie und Venerologie III/1*, 423 (Hrsg. H.A. Gottron, W. Schönfeld). Thieme, Stuttgart 1959
156. STORCK H.: Das experimentelle Ekzem. In: *Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten. Ergänzungswerk II/1*, 113 (1962)
157. STORCK H.: Allergische Mechanismen bei Hautkrankheiten. *Dermatologica* 130, 398 (1965)
158. SUZUKI A., MATSUMOTO H., ITO N., GLAVIANO V.V.: Influence of thermal injury on the histamine levels of skin and blood. *Kobe J. med. Sci.* 17, 59 (1971)
159. SZEKERES L., GECSE A.: Untersuchungen über die Rolle des Bradykinins bei gewissen Dermatosen. *Arch. klin. exp. Derm.* 228, 408 (1967)
160. SZEKERES L., KARADY I., LONOVICS J., ZSILINSZKY E., GECSE A.: Über die Rolle des Bradykinins in der späten Hypersensitivitätsreaktion. *Bőrgyógy. vener. Szle* 48, 53 (1972)
161. TAUBER A.I., KALINER M., STECHSCHULTE D.J., AUSTEN K.F.: Immunologic release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis from human lung. V. Effects of prostaglandins on release of histamine. *J. Immunol.* 111, 27 (1973)
162. TEODORESCU M., SOROCINSCHI F., MOGOS I., BRUCHER J., VASILESCU T., MOANGA M.: Factors produced in cultures of human lymphocytes stimulated by phytohemagglutinin (PHA). I. Skin-reactive factor (SRF): characterization and immunochemical study. *Int. Arch. Allergy* 43, 826 (1972)
163. TESSENOW W.: Lysosomen. In: *Molekulare Biologie der Zelle* (Hrsg. H. Bielka). Fischer, Stuttgart 1969

164. Therapeutische Leistungen der Höhensonne^R. Gebrauchsanweisung der Original Hanau Quarzlampen GmbH
165. TRUTYAK L.N.: On the status of fibrinolytic activity of the blood in patients with eczema. Vestn. Derm. Vener. (Mosk.) 47, Nr. 1, 47 (1973)
166. VALTONEN E.J., JÄNNE J., SIIMES M.: The effect of the erythematous reaction caused by ultraviolet irradiation on mast cell degranulation in the skin. Acta dermat.-vener. (Stockh.) 44, 269 (1964)
167. VALTONEN E.J.: The effect of an intraperitoneally applied p-methoxyphenethylmethylamine/formaldehyde compound on the mast cell count in the skin of the rat's ear. Acta dermat.-vener. (Stockh.) 47, 392 (1967)
168. VAUGHAN J.H.: The emerging concept of clinical immunology. J. Allergy 50, 294 (1972)
169. VENINGA T.S., BOER J.E. de: Urinary excretion pattern of serotonin and 5-hydroxyindole acetic acid in ultraviolet induced erythema. J. invest. Derm. 50, 1 (1968)
170. WEISS A.: The behaviour of eosinophilic granulocytes in the exudate in contact dermatitis, urticaria, atopic dermatitis (skin window technique). Przegl. Derm. 55, 7 (1968)
171. WERNER M.: Funktionelle Pathologie allergischer Reaktionen. In: Lehrbuch der klinischen Allergie (Hrsg. K. Hansen, M. Werner). Thieme, Stuttgart 1967
172. WILLOUGHBY D.A.: Mediators of delayed hypersensitivity reactions. Int. Arch. Allergy 36, 22 (1969)
173. WINKELMANN R.K.: Molecular inflammation of the skin. J. invest. Derm. 57, 197 (1971)
174. WODNIANSKY P.: Kritische Betrachtung der Bedeutung des Histaminopexiephänomens unter besonderer Berücksichtigung der Resultate auf dermatologischem Gebiet. Arch. klin. exp. Derm. 221, 506 (1965)
175. WODNIANSKY P.: Zur Frage der gleichbleibenden Ausprägung des histaminopexischen Vermögens im menschlichen Serum. Z. Haut- u. Geschl.-Kr. 45, 145 (1970)
176. WODNIANSKY P.: Die Stellung der Antihistaminika in der modernen Allergiebehandlung. Wien. klin. Wschr. 82, 178 (1970)
177. WOLFF H.H., BRAUN-FAICO O.: Die Ultrastruktur des Xanthelasma palpebrarum. Eine morphologische und elektronenmikroskopisch-cytochemische Untersuchung. Arch. klin. exp. Derm. 238, 308 (1970)
178. WOLF-JÜRGENSEN P., HENNINGSSEN S.J., ZACHARIAE H.: Bradykinin induced eosinophilia in "skin windows". Acta allerg. (Kbh.) 24, 157 (1969)
179. WOLF-JÜRGENSEN P.: Eosinophil leukocytes in inflammatory exudate. Allergie u. Asthma 16, 19 (1970)
180. WOLF-JÜRGENSEN P., HENNINGSSEN S.J.: Influence of serotonin (5-hydroxytryptamine) on the cellular exudate in skin windows. Acta allerg. (Kbh.) 25, 48 (1970)

181. WOLF-JÜRGENSEN P., ZACHARIAE H.: Lymph-node permeability factor and skin histamine. *Acta derm.-vener. (Stockh.)* 50, 327 (1970)
182. YAMAMOTO S., GREAVES M.W., FAIRLEY V.M.: Cyclic AMP-induced inhibition of IgE-mediated hypersensitivity in human skin. *Immunology* 24, 77 (1973)
183. YAMAMOTO S., GREAVES M.W., PLUMMER V.: Inhibition of human cutaneous anaphylaxis by cytochalasin B. *Immunology* 24, 1007 (1973)
184. YOSHIDA T., NAGAI R., HASHIMOTO T.: Lack of species specificity of a skin-reactive factor released from sensitized guinea pig spleen cells. *Lab. Invest.* 29, 329 (1973)
185. ZACHARIAE H., HENNINGSEN S.J.: Histamine and plasma kinins in delayed allergic skin reactions. *Allergie u. Asthma* 16, 9 (1970)
186. ZELGER J., HOCHLEITNER H.: Thermische und elektrische Schädigungen der Haut. In: *Dermatologie und Venerologie III/1*, 1 (Hrsg. H.A. Gottron, W. Schönfeld). Thieme, Stuttgart 1959
187. ZELGER J., HOCHLEITNER H.: Verätzungen einschließlich der Hautschädigungen durch Kampfstoffe. In: *Dermatologie und Venerologie III/1*, 70 (Hrsg. H.A. Gottron, W. Schönfeld). Thieme, Stuttgart 1959
188. ZIBOH V.A., BLANK H.: Die Rolle der Prostaglandine in der Haut. *Hautarzt* 24, 519 (1973)

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. Marghescu für die freundliche Überlassung des Themas und seine hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit herzlich danken.

Mein Dank gilt aber auch den medizinisch-technischen Angestellten der Dermatologischen Universitätsklinik, die mir durch ihre Hilfsbereitschaft in einem sehr netten Arbeitsklima die Arbeit erleichterten.

